

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

**БАБИКОВА ЕВГЕНИЯ АНАТОЛЬЕВНА**

**РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И  
СТАНДАРТИЗАЦИЯ МОНОМЕКАИНА, ПРОЯВЛЯЮЩЕГО  
АНТИАРИТМИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата  
фармацевтических наук

Научный руководитель:

Чекрышкина Людмила  
Александровна, доктор  
фармацевтических наук,  
профессор

Пермь – 2015

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
<b>ГЛАВА 1. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ. СПОСОБЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ ГРУППЫ СОЛЕЙ ОРГАНИЧЕСКИХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ОСНОВАНИЙ</b>	
(Обзор литературы)	10
1.1. Классификация и характеристика антиаритмических лекарственных средств	10
1.2. Способы оценки качества лекарственных средств из группы солей органических азотсодержащих оснований	15
1.2.1. Определение подлинности	15
1.2.1.1. Химические методы	15
1.2.1.2. Физические и физико-химические методы	17
1.2.2. Установление предельного содержания специфических примесей	20
1.2.3. Методы количественного определения	24
1.2.3.1. Титриметрические	24
1.2.3.2. Инструментальные	26
Выводы по обзору литературы	27
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	28
<b>ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	28
2.1. Характеристика объектов, вспомогательных материалов, оборудования и реактивов	28
2.2. Методы исследования	33
<b>ГЛАВА 3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СПОСОБЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ МОНОМЕКАИНА</b>	35
3.1. Физические свойства	35

3.2.	Показатели и нормы качества	37
3.2.1.	Прозрачность и цветность растворов	37
3.2.2.	Определение летучих веществ и воды (потеря в массе при высушивании)	38
3.2.3.	Сульфатная зола и тяжелые металлы	40
3.2.4.	Хлориды и сульфаты	40
3.3.	Спектральные характеристики	42
3.3.1.	УФ спектрофотометрия	42
3.3.2.	ИК спектрометрия	46
3.3.3.	ЯМР $^1\text{H}$ спектроскопия	48
3.4.	Дериватографическое исследование	50
3.5.	Химические свойства. Реакции подлинности	53
3.6.	Микробиологическая чистота	56
	Выводы по главе 3	58
	<b>ГЛАВА 4. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ МОНОМЕКАИНА НА СОДЕРЖАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ</b>	59
4.1.	Установление предельного содержания <i>o</i> -толуидина в Мономекаине методами ТСХ и ВЭЖХ	59
4.1.1.	Метод тонкослойной хроматографии	59
4.1.2.	Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии	66
4.2.	Определение содержания остаточных органических растворителей методом ГХ	72
	Выводы по главе 4	74
	<b>ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОНОМЕКАИНА</b>	76
5.1.	Определение константы ионизации	76
5.2.	Выбор условий ацидиметрического титрования в среде протогенного растворителя	79

5.3.	Установление способа индикации при ацидиметрическом титровании	81
5.3.1.	Валидация методики	83
5.4.	Экстракционное титрование	89
5.4.1.	Валидация методики	93
	Выводы по главе 5	98
	<b>ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И УСТАНОВЛЕНИЕ СРОКА ГОДНОСТИ ИССЛЕДУЕМОГО БАС</b>	99
6.1.	Установление срока годности Мономекаина методом «ускоренного старения»	99
6.2.	Стабильность БАС при хранении в естественных условиях	101
	Выводы по главе 6	102
	<b>ОБЩИЕ ВЫВОДЫ</b>	103
	<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	105
	<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	118

## Список сокращений

ICH	International Conference of Harmonisation
GMP	Good Manufacturing Practice
БАС	биологически активное соединение
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ГХ	газовая хроматография
ГЖХ	газожидкостная хроматография
ГФ	Государственная Фармакопея
ИК	инфракрасный
ЛСН	натрия лаурилсульфат
ЛФ	лекарственная форма
ЛП	лекарственный препарат
ЛС	лекарственное средство
НД	нормативная документация
ОАОР	общеалкалоидные осадительные реактивы
ОФС	общая фармакопейная статья
ПГФА	Пермская государственная фармацевтическая академия
СОВС	стандартный образец вещества свидетеля
ТСХ	тонкослойная хроматография
УФ	ультрафиолетовый
ФС	фармакопейная статья
ФСП	фармакопейная статья предприятия
ЯМР	ядерно-магнитный резонанс

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** По статистическим данным Министерства здравоохранения Российской Федерации заболевания сердечно-сосудистой системы занимают одно из первых мест в нашей стране, а летальность от них составляет 55 % от общей смертности населения России [160, 137]. За последнее десятилетие этот показатель снижается, но все же остается достаточно высоким [12, 158, 159].

Первым признаком нарушения работы сердца являются аритмии, т.е. изменение силы и частоты сердечных сокращений [38, 152]. Причину возникновения аритмии часто сложно определить, в связи с тем, что ее могут вызывать сразу несколько факторов, кроме того, она сопровождается рядом других заболеваний сердечно-сосудистой системы [5, 11, 14, 24, 98, 154]. Используемые в настоящее время антиаритмические препараты не всегда эффективны при монотерапии и зачастую требуется их комбинированное применение [13, 25, 27], поэтому врачу для лечения больного приходится выбирать несколько препаратов, механизм действия которых различается [26, 32, 50, 59, 62]. Поэтому врачи и ученые всего мира ищут эффективные способы диагностики и лечения аритмий [30, 49, 153].

В диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и аритмий, немалую помощь оказывают кардиостимуляторы, которые все чаще применяют кардиологи всего мира [6, 7, 138]. Но при электрокардиостимуляции у пациентов может возникать ряд серьезных осложнений не только физиологического, но и психологического плана [33].

В связи с этим актуальной является проблема поиска новых более эффективных и безопасных ЛС антиаритмического действия.

Как потенциальное антиаритмическое средство представляет интерес синтезированное в ПГФА (проф. Панцуркин В.И., асп. Гашкова О.В.) соединение – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат, получившее условное название Мономекаин. Как показали скрининговые исследования, Мономекаин в сравнении со своим структурным аналогом Лидокаином проявляет

более выраженное антиаритмическое действие. Его антиаритмический индекс превосходит таковой Лидокаина в 5,5 раз, а токсичность меньше в 1,6 раза (проф. Сыропятов Б.Я., доц. Рудакова И.П.) [19, 20]. Поэтому необходимы исследования, направленные на разработку способов оценки его качества и стандартизации.

**Цель и задачи.** Разработка способов контроля качества для стандартизации субстанции Мономекаина, проявляющего антиаритмическое действие.

Для реализации поставленной цели следовало решить следующие задачи:

- провести анализ литературных данных, касающихся характеристики антиаритмических ЛС современной медицинской практики;
- в результате изучения физических, физико-химических и химических свойств Мономекаина разработать способы его идентификации с целью формирования основанных на них показателей качества;
- исследовать хроматографические свойства Мономекаина, предложить на основе ТСХ, ВЭЖХ и ГХ методики определения возможных технологических примесей в нем;
- изучить кислотно-основные свойства биологически активного соединения (БАС) и разработать методики его количественного определения;
- изучить стабильность БАС, установить сроки годности субстанции;
- на основании проведенных исследований разработать проект фармакопейной статьи.

**Научная новизна.** Выполнен комплекс химико-фармацевтических исследований БАС антиаритмического действия, которые являются необходимым этапом его доклинического изучения как потенциального ЛС. Установлены физические константы исследуемого вещества, его спектральные характеристики; разработаны методики определения чистоты и подлинности физическими, физико-химическими и химическими методами, методики количественного определения, проведена их валидация; установлены стабильность и срок годности БАС.

**Практическая значимость.** Результаты проведенных исследований нашли отражение в подготовленном проекте ФС на Мономекаин. Апробация приведенных в нем способов испытаний с положительным результатом выполнена в Испытательной лаборатории ГБУЗ СО «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», фрагменты диссертационной работы использованы в учебном процессе интернатуры по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательской работы ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50 007417).

**Апробация работы.** Результаты и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на IV Международной дистанционной научной конференции «Инновации в медицине», г. Курск, 2011; Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Наука, образование, медицина», г. Самара, 2011; Ежегодной Международной научно-практической конференции «Фармация и общественное здоровье», г. Екатеринбург, 2012; Региональном конкурсе-конференции по органической химии для молодых учёных, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург, 2012; Евразийском конгрессе с международным участием «Медицина, фармация и общественное здоровье», г. Екатеринбург, 2013; областном методическом объединении преподавателей по направлению Фармация, г. Екатеринбург, 2013; научно-практической конференции с международным участием «Современные тенденции и перспективы развития фармацевтического образования и науки в России и за рубежом», ПГФА, г. Пермь, 2013; Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Тенденции и инновации современной фармацевтической науки», ПГФА, г. Пермь, 2014; Международной заочной научно-практической конференции «Наука и образование в XXI веке: теория, практика, инновации», г. Москва, 2014; Уральском научном форуме

«Современные проблемы органической химии», УрФУ им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, 2014.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 12 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 2.

**Личный вклад автора.** Основные экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены самим автором или при его непосредственном участии. Автором проведен анализ, систематизация и интерпретация полученных экспериментальных данных, подготовлены научные публикации и доклады на конференциях, написаны диссертация и автореферат.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, включающих обзор литературы, характеристику объектов, материалов и методов исследования, 4-х глав экспериментальных исследований и выводов; списка литературы, включающего 160 источников и приложения. Работа изложена на 144 страницах компьютерного текста, включает 36 таблиц, 1 схему, 16 рисунков и 27 страниц приложения.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности:** научные положения и результаты диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта указанной специальности.

**Положения, выдвигаемые на защиту:**

- обоснование необходимости химико-фармацевтического изучения Мономекаина как потенциального ЛС антиаритмического действия;
- результаты разработок способов испытаний на подлинность, чистоту и количественного определения Мономекаина как критериев оценки качества;
- результаты исследования стабильности и срока годности Мономекаина;
- обоснование норм качества, включенных в проект ФС.

# ГЛАВА 1. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ. СПОСОБЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ ГРУППЫ СОЛЕЙ ОРГАНИЧЕСКИХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ОСНОВАНИЙ

(Обзор литературы)

## 1.1. Классификация и характеристика антиаритмических лекарственных средств

Применяемые в медицинской практике ЛП, проявляющие антиаритмическую активность, классифицируются по механизму действия, локализации действия, способам применения в клинической практике и др. [46, 109, 126].

Самая распространенная классификация предложена английским ученым Вогем-Вильямсом в 1971 году, в которой он разделил антиаритмические препараты на четыре класса: мембраностабилизирующие средства (блокаторы натриевых каналов), подклассы IA, IB, IC;  $\beta$ -адреноблокаторы; препараты, замедляющие реполяризацию (блокаторы калиевых каналов); блокаторы кальциевых каналов (антагонисты ионов кальция) [15]. Этой классификации придерживаются многие ученые, например, М.Д. Машковский [46].

По классификации, предложенной Д.А. Харкевичем, антиаритмические препараты делят на три группы: средства, преимущественно блокирующие ионные каналы кардиомиоцитов (подгруппы – блокаторы натриевых каналов (подклассы IA, IB, IC), блокаторы кальциевых каналов L-типа, блокаторы калиевых каналов, избирательные блокаторы  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  входящего тока синусового узла); средства, влияющие преимущественно на рецепторы эфферентной иннервации сердца; разные средства, проявляющие противоаритмическую активность [126].

В НИИ фармакологии РАМН исследуется новый антиаритмический препарат брадизол, который, с точки зрения авторов [132], следует отнести к V

классу антиаритмиков, т.к. исследуемое вещество обладает специфическим механизмом действия – уменьшает частоту сердечных сокращений, увеличивая интервал РР, а также замедляет проведение импульсов по предсердиям и предсердно-желудочковому узлу, вызывая увеличение интервала PQ. Брадизол – оригинальное брадикардическое средство, обладающее выраженным антиаритмическим, противофибрилляторным и противоишемическим действием, угнетает функцию синусового узла, вызывая статистически значимое увеличение времени восстановления его функции [131].

Блокаторы натриевых каналов клеточных мембран делят еще на три группы по силе действия: 1a (хинидин, новокаинамид, аймалин) – вызывает умеренную блокаду натриевых каналов, 1в (лидокаин, дифенин, мексилетин) – незначительную блокаду натриевых каналов, 1с (флекаинид, пропafenон, этмозин) – выраженную блокаду натриевых каналов. Эти препараты более эффективны при тахикардиях, нежели при брадикардиях. Они стабилизируют клеточные мембраны, но у всех препаратов этой группы в той или иной степени наблюдается побочный эффект проаритмии. Например, аллапинин (гидробромид алкалоида лаппаконитина) применяется в медицине с 1989 года, его действие распространяется на широкий круг нарушений ритма сердца: желудочковые и мерцательные аритмии. Побочные эффекты возникают редко и возможна комбинация с другими антиаритмиками [107]. Преимущества избирательного блокатора каналов ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , ивабрадина (производное бензазепин-2-она) в снижении среднесуточной частоты сердечных сокращений и в покое. Кроме того он предотвращает пароксизмы синусовой тахикардии, что дает возможность применять этот препарат в лечении синусовых тахикардий [29, 40]. На основе комбинации этмозина и этацизина получено новое антиаритмическое средство метацизин, обладающее более широким спектром антиаритмического действия и меньшими побочными эффектами в сравнении с исходными препаратами [9].

Особого внимания в этой группе заслуживает препарат пропafenон, который кроме блокады натриевых каналов блокирует медленные кальциевые каналы и  $\beta$ -адренорецепторы. Эти свойства позволяют применять пропafenон при

различных видах аритмии: наджелудочковых, желудочковых, фибрилляции предсердий и др. [93, 127].

$\beta$ -Адреноблокаторы (анаприлин, пиндолол, атенолол, метопролол) оказывают антиаритмическое действие, подавляя аритмогенные эффекты катехоламинов. Эффективность в купировании аритмий связана с распределением  $\beta_1$ -адренорецепторов в миокарде, которые повышают тонус блуждающего нерва [129]. Например, высокоселективный  $\beta_1$ -адреноблокатор бисопролол применяется при четких нарушениях ритма сердца (суправентрикулярной и желудочковой аритмиях) в десять раз меньшей дозе, чем метапролол и атенолол, кроме того снижает вероятность проявления побочных эффектов, связанных с блокадой  $\beta_2$ -адренорецепторов (гипертония, бронхоспазм и др.) [43, 47, 103].

Антиаритмический эффект блокаторов калиевых каналов (амиодарон, соталол) связан с их способностью увеличивать длительность потенциала действия кардиомиоцитов [97, 135]. Дополнительное изучение амиодарона позволило модифицировать его молекулу, удалив из нее атомы йода, и получить новый антиаритмический препарат дронедазон, обладающий блокирующим действием на многие ионные каналы. Из-за чего дронедазон проявляет свойства не только препаратов III класса, но обладает свойством блокировать натриевые каналы (как препараты I класса) и кальциевые каналы (IV класс) [37, 146]. Сотрудниками ЦХЛС – ВНИХФИ в 2003 году был создан первый отечественный антиаритмик III класса нибентан. При исследовании его действия были установлены аритмогенные свойства, кроме того, для него не было лекарственной формы для перорального применения. Для устранения этих недостатков молекулу нибентана модифицировали и получили новый антиаритмический препарат ниферидил, который обладает высокой антиаритмической активностью при различных видах аритмии. При пероральном введении ниферидил проявляет диуретическое действие, по активности по этому параметру превосходит фуросемид, и не оказывает влияние на агрегацию тромбоцитов. Комплекс исследований показал, что в дозах, оказывающих антифибрилляторное действие,

ниферидил не обладает неблагоприятными эффектами на основные системы организма [28].

Из блокаторов кальциевых каналов или антагонистов ионов кальция как антиаритмические препараты применяют верапамил и дилтиазем для лечения наджелудочковых аритмий: синусовой тахикардии, наджелудочковой пароксизмальной тахикардии, мерцательной аритмии и др. Их действие основано на снижении скорости проведения импульсов по атриовентрикулярному узлу [15].

В комплексной терапии при лечении аритмий также применяют препараты разных фармакологических групп: сердечные гликозиды (дигитоксин, целанид, коргликон), препараты калия и магния [41, 134], транквилизаторы (оксипрометазин), спазмолитики (настойка плодов боярышника), стимуляторы метаболических процессов (аденозин, рибоксин, милдронат) и др.

Кроме того, ученые исследуют применение «нетрадиционных» антиаритмических препаратов, таких как омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) [45, 51], коэнзима Q<sub>10</sub> [1], для профилактики и комплексной терапии аритмий. При исследовании влияния омега-3 ПНЖК (препарат омакор) выявлено, что они влияют на транспорт ионов натрия и кальция: блокируют быстрые вольтаж-зависимые натриевые каналы и снижают поступление ионов кальция, а также оказывают влияние на экспрессию в миокарде коннексинов, что способствует антиаритмическому эффекту [18].

В Приложении 1 представлены группы антиаритмических средств, их химическая структура, а также приведен спектр побочных действий для каждого из упоминаемых препаратов. Как следует из приведенных данных, химическая структура антиаритмиков разнообразна, что, по-видимому, обуславливает определенную направленность действия. Однако, каждый из них имеет существенные побочные эффекты, в связи с чем поиск эффективных и малотоксичных соединений, обладающих антиаритмическим действием, является актуальным.

Ученые проводят исследования разных классов антиаритмических препаратов [21, 104], подробно изучается взаимосвязь структуры с

антиаритмической активностью производных N-фенилацетамида и амидов ароматических карбоновых кислот. Модифицированы молекулы известных антиаритмических препаратов лидокаина и новокаинамида, по результатам исследований предложено 51 соединение с более выраженным противоаритмическим действием, которые рекомендованы к дальнейшему изучению [124, 125].

Синтезируются производные новых химических структур, например, производные пиперидил-4-этана [22], 3-ацетил-2-г-9-диалкиламиноэтилимидазо[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазолов [3], 1-диалкил(алкил)аминоэтил-2,3-дигидроимидазо-[1,2- $\alpha$ ]бензимидазолов [4], соли N,N'-малонил-бис-*n*-аминобензойной кислоты [133] и др.

В ПГФА под руководством профессора Панцуркина В.И. в течение ряда лет проводились исследования по модификации производных ариламидов аминокарбоновых кислот с целью выявления соединений, проявляющих антиаритмическую активность. В частности, получены такие БАС как 2'-броманилид-3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты нитрат, 2'-броманилид-3-N,N,N-триэтиламинопропановой кислоты йодид, 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат (Мономекаин) и др. Фармакологические исследования показали более высокую антиаритмическую активность Мономекаина в сравнении с уже известным препаратом, его структурным аналогом – Лидокаином. Установлено, что антиаритмический индекс Мономекаина превышает лидокаиновый в 5,5 раз, при этом токсичность Мономекаина ( $LD_{50} = 65,0$ ) в 1,6 раза меньше чем у Лидокаина ( $LD_{50} = 39,3$ ) [19].

Полученные результаты позволяют рассматривать данное БАС как потенциальное ЛС, для чего необходимо проведение углубленных химико-фармацевтических и последующих фармакологических исследований.

## **1.2. Способы оценки качества лекарственных средств из группы солей органических азотсодержащих оснований**

### **1.2.1. Определение подлинности**

#### **1.2.1.1. Химические методы**

Мономекаин проявляет слабые основные свойства за счет наличия в молекуле третичной алифатической аминогруппы, поэтому он схож по свойствам с группой алкалоидов – азотистых органических соединений основного характера природного или синтетического происхождения. За счет неподеленной электронной пары третичного атома азота они способны образовывать соли и комплексные соединения [105, 106].

На основе этих свойств азотистых оснований выделена группа реактивов, для их обнаружения и идентификации – общеалкалоидные осадительные реактивы (ОАОР). К этой группе относятся раствор висмута иодида в калия иодиде (реактив Драгендорфа), раствор йода в калия иодиде (реактив Бушарда-Вагнера, Люголя), пикриновая кислота и др. [16].

Большинство реакций с ОАОР не являются специфическими, а используются для обнаружения азотистых оснований, например, в хроматографическом скрининге [16]. Но с некоторыми реактивами азотистые основания дают специфическое окрашивание или кристаллические осадки характерной формы, что используют в качественном анализе.

Например, с пикриновой кислотой алкалоиды образуют кристаллические осадки пикратов желтого цвета с четкими температурами плавления: пикрат лидокаина и пикрат атропина [89, 111, 113]. Некоторые ЛС образуют с этим реактивом кристаллы характерной формы: пахикарпин – желто-зеленые призматические; атропин – светло-желтые прямоугольные пластинки, одиночные и в сростках; стрихнин – мелкие игольчатые кристаллы с закрученными концами, отдельно и в виде сростков.

С реактивом Драгендорфа мельдоний [90] образует оранжевый осадок, эфедрин – пучки тонких игольчатых кристаллов и пластинки неправильной

формы темно-коричневого цвета, новокаин – прямоугольные пластинки красно-бурого цвета [16].

С реактивом Бушарда-Вагнера пахикарпин дает золотисто-коричневые или золотисто-зеленые призматические кристаллы; морфин – сrostки из прямоугольных красно-оранжевых пластинок, дибазол – красновато-серебристый осадок [16].

С раствором кремневольфрамовой кислоты доказывают подлинность аллапинина по образованию осадка белого цвета [56].

Многие ЛС из группы органических азотсодержащих оснований вследствие особенностей структуры взаимодействуют с некоторыми реагентами с образованием окрашенных соединений. При этом протекают реакции окисления, дегидратации, конденсации, нитрования, образования оксониевых солей и др.

Например, с ванадатом аммония и серной кислотой концентрированной при нагревании новокаинамид образует вишнево-красное окрашивание, реакция является отличительной от новокаина [119].

Ряд органических азотсодержащих оснований образуют окрашенные ауриновые красители с реактивом Марки (раствор формальдегида в серной кислоте концентрированной). Так, промедол дает пурпурно-красное окрашивание, бенактизин – изумрудно-зеленое, переходящее при стоянии в синее; димедрол – лимонно-желтое [16, 88].

При испытании на подлинность используют реакции с серной и азотной концентрированными кислотами: с серной кислотой димедрол и дротаверин образуют желтое окрашивание [88], папаверин – фиолетовое [91], бенактизин – оранжевое окрашивание, переходящее в малиновое [16].

Химические методы анализа используются также для определения чистоты фармацевтических субстанций. Например, наличие специфической примеси 2,6-диметиланилина в субстанции лидокаина гидрохлорида определяют визуально по эффекту реакции со свежеприготовленным 1 % раствором диметиламинобензальдегида в метаноле, появившееся желтое окрашивание в испытуемом растворе должно быть более интенсивным, чем в контрольном

растворе и менее интенсивным, чем в стандартном растворе (не более 0,01 % в субстанции) [89].

### 1.2.1.2. Физические и физико-химические методы

Для исследования свойств ЛС и установления их качества широко применяются спектральные и хроматографические методы: спектрофотометрия в УФ и ИК областях, спектроскопия ядерного магнитного резонанса, тонкослойная, газовая, газожидкостная и высокоэффективная варианты хроматографии.

**Фотометрические методы**, в частности, УФ и ИК спектрометрия имеют приоритетное значение при установлении подлинности ЛС. Практически каждый стандарт качества ЛС зарубежных фармакопей, а теперь и ФС отечественной фармакопеи содержат испытания, связанные с установлением спектральных характеристик в средней ИК области ( $4000-400\text{ см}^{-1}$ ) или в ближней ультрафиолетовой области (190-380 нм).

В случае использования ИК спектрометрии для идентификации ЛС его спектр, как правило, получают в виде дисков (таблеток) со спектрально чистым калия бромидом. ГФ рекомендует два способа установления подлинности по ИК спектру:

- полученный ИК спектр анализируемого ЛС сравнивают с рисунком спектра, приведенным в ФС, по положению полос поглощения он должен соответствовать рисунку спектра;
- при проведении анализа получают в одинаковых условиях спектр стандартного образца ЛС, который анализируют, и спектр исследуемого ЛС. В этом случае спектр анализируемого ЛС по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца.

Достоинство ИК спектрометрии заключается в универсальности метода: спектр каждого вещества строго индивидуален, он используется при исследовании соединений органической и неорганической природы в различных агрегатных состояниях.

Органические соединения в зависимости от наличия в их молекуле определенных структурных элементов, характеризуются максимумами и/или минимумами поглощения в УФ области, положения длин волн которых в спектре приводятся в НД. В некоторых случаях в НД приводятся отношения значений оптических плотностей при двух максимумах с указанием их интервалов, при которых исследуемое ЛС считается соответствующим требованиям стандарта качества. Это, как правило, поглощение за счет замещенного или незамещенного ароматического радикала, вызванного  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходами, или отдельных функциональных групп, содержащих кратные связи. В табл. 1 приведены примеры использования УФ спектрофотометрии при установлении подлинности некоторых ЛС из группы органических азотсодержащих оснований.

**Масс-спектрометрия** является аналитическим методом, при котором исследуемый образец, находящийся в газообразном состоянии в высоком вакууме, подвергается ионизации и фрагментации. Образовавшаяся после ионизации заряженная частица ускоряется в электрическом поле, затем разделяется в магнитном поле на пучки ионов с одинаковым отношением массы к заряду и далее регистрируется соответствующая им интенсивность.

Таблица 1

Спектральные характеристики УФ области, используемые при испытании на подлинность некоторых ЛС

ЛС	Концентрация ЛС, %; растворитель	Характеристика, используемая для идентификации, $\lambda_{\max}$ , нм	НД	Литература
Аймалин	0,002 метанол	247±2, 294±2	ФС 42-1876-82	112
Аллапинин	0,02 вода	298±2	П N014369/01-170308	56
Атенолол	0,001 метанол	275, 282 $A_{275}/A_{282} = 1,15-1,20$	ОФС 42-0219-07	8
Нибентан	0,002 0,1М НСl	270±2, 228±2	ФСП 42-0067489703	122
Новокаинамид	0,001 0,1М NaOH	273±2	ФСП 42-0034015200	119
Этацизин	0,001 0,01М НСl	267±2, 250±2	ФС 42-2919-99	114

Зарегистрированный масс спектр обычно воспроизводится графически в виде штрихов, при этом интенсивность отдельных пиков указывается в % к наибольшему интенсивному пику. Накоплены определенные данные, касающиеся фрагментации органических молекул, что используется как с исследовательскими целями, в частности, для установления молекулярных масс синтезируемых органических соединений, подтверждения их структуры [63], а также в аналитической практике для установления подлинности [143]. С развитием науки, техники и практики масс-спектрометрии ее стали совмещать с хроматографией. Появившиеся масс-спектрометры, совмещенные с газовым или жидкостным хроматографом значительно расширили возможности метода и круг изучаемых объектов [136, 140]. Высокая чувствительность метода хроматомасс-спектрометрии позволяет обнаружить и идентифицировать отдельные компоненты в составе смеси в случае весьма незначительного их содержания [100].

Из **хроматографических методов** наиболее простым и экономичным в исполнении является метод ТСХ. Он широко применяется в фармацевтическом анализе для определения чистоты и подлинности ЛС [35, 36, 139]. Специфическое преимущество тонкослойной хроматографии – высокая производительность, что дает возможность выполнять разделение одновременно нескольких образцов [16, 128]. Требования к условиям проведения анализа методом ТСХ изложены в ОФС 42-0094-09 ГФ XII [81]. Что касается способов обнаружения на хроматограмме зон исследуемых веществ, то используются преимущественно следующие: наблюдение под УФ светом, опрыскивание растворами обнаруживающих реагентов или выдерживание в их парах.

Для установления подлинности ЛС хроматографирование проводят в присутствии «свидетеля» и идентичность исследуемых образцов устанавливают по положению пятен на хроматограмме, а при хроматографировании без «свидетеля» идентифицируют вещество по коэффициенту подвижности ( $R_f$ ).

Верапамил в таблетках с дозировкой 80 мг согласно требованиям ФС 42-3147-95 [115] идентифицируют в системе растворителей хлороформ – спирт 95 %

– аммиака раствор 25 % (95:5:0,2), обнаружение проводят с помощью раствора *o*-толидина. Лидокаина гидрохлорид в виде спрея ФСП 42-0036343602 [120] хроматографируют в системе спирт *n*-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода (5:4:1), опрыскивают модифицированным реактивом Драгендорфа и немедленно просматривают хроматограмму. Хроматографирование проводят в присутствии свидетелей (СОВС), пятна на полученных хроматограммах ЛС должны находиться на уровне пятен на хроматограммах СОВС.

Основные положения, касающиеся теоретических вопросов и практического применения метода ВЭЖХ, изложены в ОФС ГФ XII [83]. При испытании на подлинность метод используется, в частности, в контроле качества атенолола (ФС 42-0219-07) [87], предуктала (ФСП 42-0053497904) [121], триметазида в таблетках (ФСП 42-0341482403) [123], раствора морфина гидрохлорида для инъекций (ФС 42-3472-98) [116]. Следует отметить, что этот вариант хроматографии в меньшей степени используется в фармацевтическом анализе при установлении подлинности. Значительно более широко его используют при испытании на посторонние примеси и количественном анализе ЛС в ЛП, о чем будет сказано далее.

### **1.2.2. Установление предельного содержания специфических примесей**

К разряду посторонних примесей относят технологические (исходные продукты или полупродукты синтеза, остаточные органические растворители), а также примеси, образующиеся вследствие несоблюдения условий хранения (продукты гидролиза, окисления, восстановления ЛС и др.).

Основными методами установления их наличия и определения ориентировочного полуколичественного и количественного содержания являются хроматографические: ТСХ, ВЭЖХ, ГХ [34, 31]. Общие требования к проведению хроматографического процесса изложены в ОФС: 42-0094-09 (ТСХ), 42-0095-09 (ГХ), 42-0096-09 (ВЭЖХ) [81, 82, 83], условия, применимые к анализу конкретного ЛС, устанавливаются экспериментально.

Остаточные органические растворители – это растворители, которые используются на любой стадии производства и полностью не удаляются после завершения технологического процесса. Контролю на содержание органических растворителей подвергаются все ЛС и вспомогательные вещества, если на какой-либо стадии получения или их очистки растворители были использованы, а нормативная документация, регламентирующая качество ЛС, должна иметь раздел «Остаточные органические растворители». Основные требования к испытанию по этому показателю изложены в ОФС 42-0057-07 [73], здесь же приведена классификация органических растворителей и их предельно допустимое содержание в ЛС, исходя из степени возможного риска для здоровья человека.

В табл. 2, 3 и 4 приведены примеры использования ТСХ, ВЭЖХ и ГХ для контроля качества некоторых ЛС.

При испытании на посторонние примеси методом ТСХ на линию старта пластинки наносят либо имеющиеся растворы стандарта примеси, либо установленные экспериментально количества основного вещества, по которой на хроматограмме делают заключение о предельно допустимом содержании примеси.

Таблица 2

## Примеры использования ТСХ при определении посторонних примесей

ЛС	Подвижная фаза	Проявитель	Критерии качества	НД	Литература
1	2	3	4	5	6
Амиодарона гидрохлорид	Муравьиная кислота безводная – метанол – дихлорметан (5:10:85)	УФ свет, реактив Драгендорфа и раствор пероксида водорода	Пятно на хроматограмме испытуемого раствора, соответствующее по положению пятну на хроматограмме раствора сравнения, не должно превышать это пятно по совокупности окраски и размера (не более 0,2 %)	ЛСР 000058- 020507	53

1	2	3	4	5	6
Атропина сульфат	Гексан – хлороформ – диэтиламин (5:4:1)	УФ свет	Пятно посторонней примеси на хроматограмме по совокупности величины и интенсивности окраски не должно превышать пятна СОВС апоатропина (не более 0,2 % в препарате)	ФС 42-2615-89	113
Новокаин-амид	Уксусная кислота 98 % - вода – бутанол-1 (15:30:60)	УФ свет	На хроматограмме допускается появление только одного пятна. Пятно примеси не должно превышать пятна свидетеля по совокупности и интенсивности окрашивания (не более 0,5 % в препарате)	ФСП 42-0034015 200	119
Нибентан	Бензол – спирт изопропиловый – аммиака раствор концентрированный (50:47:3)	УФ свет	На хроматограмме должно быть одно пятно основного вещества	ФСП 42-0067489 703	122
Этацизин	Ацетон	УФ свет	Кроме основного пятна на старте, допускается наличие дополнительного пятна, которое по размеру и интенсивности окраски не должно превышать пятна раствора этацизина (не более 0,1 % примеси)	ФС 42-2919-99	114

## Примеры применения метода ВЭЖХ в анализе ЛС

ЛС	Критерии качества	НД	Литература
Амиодарона гидрохлорид	Любая единичная примесь – не более 0,2 % Сумма примесей – не более 0,5 %	ЛСР-000058-020507	53
Соталол	Примеси 4 <sup>1</sup> (2-изопропиламино-этил)-метансульфонанилида гидрохлорида – не более 0,2 %; Любая другая примесь – не более 0,1 %; Сумма всех примесей – не более 0,5 %	НД 42-10540-99	52
Тримекаин	Содержание мезидина – не более 0,1 %, суммарное содержание всех примесей – не более 0,5 %	ЛСР 004533/07-071207	54

## Примеры использования метода ГХ при испытании ЛС на содержание остаточных органических растворителей

ЛС	Критерии качества	НД	Литература
Аллапинин	Метанол – не более 0,3 %	П N014369/01-170308	56
Амиодарон	Ацетон – не более 0,005 % Дихлорметан – не более 0,01 %	ЛСР-005691/08-210708	55
Атропина сульфат	Ацетона – не более 0,25 %; Метанола – не более 0,3 %	ФС 42-2615-89	113
Новокаин-амид	Спирт изопропиловый – не более 0,1 %; метанол – отсутствие	ФСП 42-0034015200	119
Соталол	Ацетон – не более 0,1 % Метанол – не более 0,05 %	НД 42-10540-99	52
Тримекаин	Этанол не более 0,5 %	ЛСР 004533/07-071207	54

### 1.2.3. Методы количественного определения

#### 1.2.3.1. Титриметрические

ЛС, содержащие третичную аминогруппу, обладают слабыми основными свойствами, поэтому для их количественного определения можно применять методы кислотно-основного титрования, такие как ацидиметрия в неводной среде и алкалиметрия вариант вытеснения [23].

**Метод ацидиметрии в неводной среде** широко используется в фармацевтическом анализе, поскольку многие ЛС проявляют слабые основные свойства. Для усиления основных свойств слабого органического основания применяют протогенные растворители: безводные уксусную, пропионовую или муравьиную кислоты, уксусный ангидрид и их смеси с другими растворителями [79]. Наиболее оптимальный растворитель подбирают по значениям константы ионизации: чем больше разница между значениями  $pK_a$  растворителя и анализируемого вещества, тем оптимальнее условия титрования.

Применение уксусной кислоты ледяной может вызвать ряд нежелательных эффектов, например, большие солевые ошибки, поэтому чаще всего ее применяют в комбинации с уксусным ангидридом. Уксусный ангидрид способен связывать воду, усиливать основные свойства слабых оснований в большей степени, чем уксусная кислота ледяная, ацилирует амино-, гидразино-группы, защищая их при титровании, способен связывать галогенид-ионы.

При использовании муравьиной кислоты в качестве растворителя необходимо учитывать ее восстановительные свойства, поэтому она используется при анализе веществ, не обладающих окислительно-восстановительной активностью.

Определение точки эквивалентности возможно несколькими способами: индикаторным (применяют индикатор кристаллический фиолетовый при титровании арбидола, артикаина гидрохлорида, дротаверина гидрохлорида, кодеина и др. ЛС; индикатор *n*-нафтолбензеин для дроперидола, клотримазола и др.), потенциометрически устанавливается конец титрования в случае количественного

определения этим методом атенолола, гликлазида, мелоксикама, пироксикама и др. [23].

К преимуществам метода неводного титрования можно отнести возможность его применения для веществ с очень слабыми основными свойствами или нерастворимых в воде, как бесцветных, так и окрашенных растворов. В некоторых случаях этим методом можно определить вещество в смеси с другими без предварительного разделения компонентов. Методом неводного титрования можно получить более точные результаты по сравнению с титрованием в водной среде, что объясняется меньшим значением поверхностного натяжения органических растворителей, поэтому размеры капель неводных жидкостей меньше размеров капель водных растворов.

К недостаткам *неводного титрования* можно отнести необходимость применения герметизированных титровальных установок, т.к. используются летучие токсичные растворители.

**Вариант вытеснения слабого органического основания** более сильным неорганическим применяется для солей азотистых оснований, преимущественно в условиях аптек. Титрование проводят, как правило, растворами натрия гидроксида в присутствии индикатора фенолфталеина. Для извлечения выделяющегося органического основания и подавления его диссоциации применяют органические растворители (хлороформ, спирт этиловый или их смеси). Например, в присутствии спирта этилового титруют лидокаина гидрохлорид [89], хлороформа – атропина сульфат, хинина гидрохлорид [113]; спирто-хлороформную смесь применяют при титровании папаверина гидрохлорида, дибазола и др. [23].

Еще одним способом количественного определения азотистых оснований может служить **метод экстракционного или двухфазного титрования**. В качестве титранта используют раствор натрия лаурилсульфата (додецилсульфата). Титрование проводится в кислой среде, что необходимо для протонирования органического азотсодержащего основания и последующего образования ионного ассоциата с анионом титранта. Ионные ассоциаты нерастворимы в воде, в процессе титрования извлекаются в органическую фазу, как правило, хлороформ. Точку

эквивалентности устанавливают визуально по изменению окраски индикатора диметилового желтого или его смеси с метиленовым синим. С помощью метода возможно количественное определение основного вещества в присутствии продукта разложения, что дает ему определенные преимущества перед вариантами кислотно-основного титрования. Разработаны методики экстракционного титрования для таких лекарственных средств как, фенкарол, аминазин, хинин и др. [130].

### 1.2.3.2. Инструментальные

В фармацевтическом анализе для количественного определения ЛС широко используются инструментальные методы, в частности, фотометрия и различные варианты хроматографии [23, 35, 39, 141, 142].

Чаще всего инструментальные методы применяют для количественного определения ЛС в различных ЛФ, оценки ЛФ по тестам «Растворение», «Однородность дозирования». Преимущества инструментальных методов перед классическими титриметрическими общеизвестны.

УФ спектрофотометрия является наиболее распространенным инструментальным методом для исследования ЛС органической природы, содержащих структурные фрагменты, за счет которых возможно поглощение УФ света в ближнем ультрафиолете. Общие основы метода УФ спектрофотометрии изложены в ОФС 42-0042-07 ГФ XII изд. [65]. Метод используется для количественного определения атенолола (ФСП 42-0017420703) [118], верапамила (ФСП 42-0030035500) [115] и предуктала (ФСП 42-0053497904) [121] в субстанциях, тримекаина в растворе для инъекций 2 % (ФСП 42-0002291502) [117], лидокаина в спрее 2 % (ФСП 42-0036343602) [120].

Если ЛС окрашено, или в методике используется реакция, сопровождающаяся образованием окрашенного соединения, то определение проводят в видимой области спектра (380-780 нм). Так, неовир в растворе (ВФС 42-2481-95) [17] определяют при длине волны  $408 \pm 1$  нм; фурагин (таблетки 50 мг) (Р N002386/01-290609) [57] – при длине волны 396 нм.

В последние 5-10 лет в практику количественного анализа ЛС широко внедряются хроматографические методы [144, 145, 147, 148, 149, 150, 155, 156, 157] и, прежде всего, ВЭЖХ [151]. Преимуществами хроматографии является их универсальность – возможность использования для установления подлинности, предельного содержания посторонних примесей и количественного определения исследуемых ЛС в субстанции или в ЛФ.

Краткие теоретические основы ВЭЖХ, классификация ее вариантов, необходимое для проведения анализа оборудование, типы сорбентов, способы детектирования, применяемые в качестве подвижных фаз растворители, приведены в ОФС 42-0096-09 ГФ XII издания [83].

Метод ВЭЖХ использован для количественного определения триметазида в таблетках (ФСП 42-03414822403) [123], предуктала в субстанции (ФСП 42-0053497904) [121], морфина гидрохлорида в растворе для инъекций 1 % (ФС 42-3472-98) [116], лидокаина гидрохлорида в субстанции (ФС 42-11479-01) [111].

### **Выводы по обзору литературы**

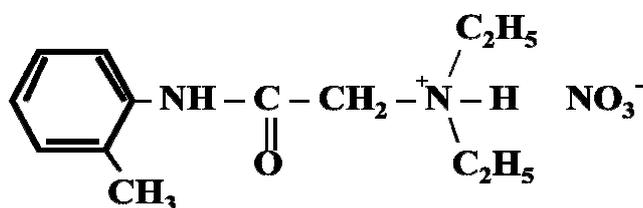
1. Анализ литературных источников, касающийся проблемы лечения аритмий, позволяет сделать вывод об актуальности исследований по созданию новых эффективных и безопасных антиаритмических средств. Поиск ведется среди БАС различного химического строения, в т.ч. в ряду анилидов аминокарбоновых кислот, представителем которых является Мономекаин – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат.
2. Для оценки качества ЛС из группы солей органических азотсодержащих оснований в фармацевтическом анализе применяется широкий спектр методов, основанных на определении физических показателей, физико-химических и химических свойствах, по результатам которых можно получить исчерпывающую информацию о качестве ЛП, в том числе использующихся для стандартизации новых БАС. Предпочтение, как правило, отдается объективным инструментальным методам.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

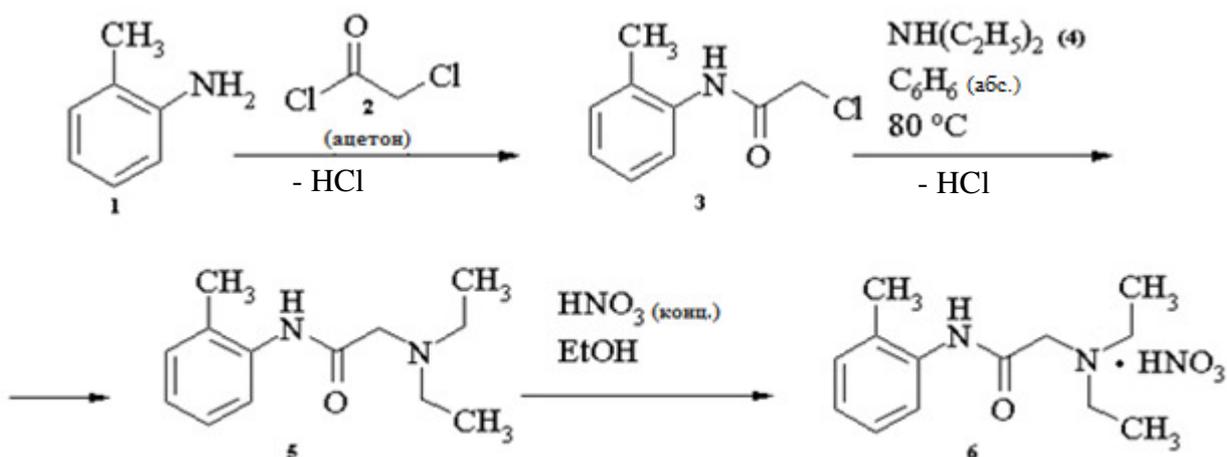
#### 2.1. Характеристика объектов, вспомогательных материалов, оборудования и реактивов

Объект исследования – Мономекаин – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат. Экспериментальные исследования проведены на 10 сериях БАС, полученных в лабораторных условиях по методике описанной ранее [42] и модифицированной автором.



М.м. 283,33

Схема синтеза:



Спектры ЯМР  $^1H$  зарегистрированы на приборе Bruker Avance 500 (Германия) (500 МГц для  $^1H$ ) в DMSO- $d_6$  с SiMe $_4$  в качестве внутреннего стандарта при комнатной температуре. Температуры плавления соединений определены на приборе SMP3 (Barloworld Scientific). Элементный анализ

образцов проводили на автоматическом CHN анализаторе Perkin Elmer PE 2400, серия II. Для ТСХ использовали пластинки Sorbfil (ООО «Имид», Россия).

**2-Метиланилид хлорэтановой кислоты.** 10 мл (93,18 ммоль) 2-метиланилина (1) растворяли в 100 мл ацетона, охлаждали до 0 °С, по каплям добавляли 8,18 мл (93,18 ммоль) хлорацетилхлорида (2), перемешивали 30 мин. К реакционной массе добавляли 500 мл воды очищенной и перемешивали 30 мин, выпавший белый хлопьевидный осадок отфильтровывали, промывали до нейтрального значения рН водой, высушивали. Получали 9,57 г (56.0 %) целевого продукта (3) – 2-метиланилида хлорэтановой кислоты;  $T_{пл}$  111-113 °С; ТСХ: бензол : этилацетат, 9:1;  $R_f$  0,57.

$C_9H_{10}ClNO$  (183,63 г/моль). Найдено (%): С 58,86; Н 5,48; N 7,65; Cl 19,22. Вычислено (%): С 58,86; Н 5,49; N 7,63; Cl 19,31.

Спектр ЯМР  $^1H$ : 9,65 с (1 Н, NH); 7,40 д (1 Н, Ar,  $J = 7,80$ ); 7,20 д (1 Н, Ar,  $J = 7,38$ ); 7,15 дд (1 Н, Ar,  $J = 7,48$ ; 7,48); 7,10 дд (1 Н, Ar,  $J = 7,32$ ; 7,32); 4,30 с (1 Н,  $CH_2$ ); 2,20 с (3 Н,  $CH_3$ ).

**2-Метиланилид N,N-диэтиламиноэтановой кислоты.** 9,10 г (49,56 ммоль) 2-метиланилида хлорэтановой кислоты растворяли при нагревании в 110 мл бензола абсолютного и добавляли 12,64 мл (123,9 ммоль) диэтиламина (4). Реакционную массу кипятили 5 ч. Выпавший осадок диэтиламина хлоргидрата отфильтровывали, раствор упаривали. Получали 9,69 г (88,8%) коричневого подвижного масла (5). Продукт использовали в дальнейшем синтезе без дополнительной очистки; ТСХ: бензол : этилацетат, 9:1;  $R_f$  0,40.

$C_{13}H_{20}N_2O$  (220,31 г/моль). Найдено (%): С 70,46; Н 9,06; N 13,53. Вычислено (%): С 70,87; Н 9,15; N 12,72.

Спектр ЯМР  $^1H$ : 9,47 с (1 Н, NH); 7,90 д (1 Н, Ar,  $J = 7,91$ ); 7,22 д (1 Н, Ar,  $J = 7,43$ ); 7,18 ддд (1 Н, Ar,  $J = 7,56$ ; 7,56; 1,05); 7,03 ддд (1 Н, Ar,  $J = 7,46$ ; 7,46; 1,10); 3,14 с (2 Н,  $CH_2$ ); 2,61 д (4 Н,  $2 \times \underline{CH_2}CH_3$ ,  $J = 7,13$ ); 2,23 с (3 Н,  $CH_3$ ); 1,05 д (6 Н,  $2 \times \underline{CH_2}CH_3$ ,  $J = 7,13$ ).

**2-Метиланилид N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат.** 9,69 г (43,98 ммоль) 2-метиланилида N,N-диэтиламиноэтановой кислоты растворяли в 9 мл

этанола, охлаждали до 0 °С и добавляли по каплям 2,96 мл (43,98 ммоль) концентрированной азотной кислоты (67 %). Реакционную массу упаривали, кристаллический продукт перекристаллизовывали из ацетона, сушили. Получали 9,03 г (78,5 %) белого кристаллического продукта (6),  $T_{пл}$  137,5-138,5°С; ТСХ : бензол : диизопропилэтиламин (3:0,05);  $R_f$  0,29.

$C_{13}H_{21}N_3O_4$  (283,32 г/моль). Найдено (%): С 55,23; Н 7,73; N 14,70. Вычислено (%): С 55,11; Н 7,47; N 14,83.

Спектр ЯМР  $^1H$ : 9,96 с (1 Н, NH); 9,45 уш.с (1 Н,  $HNO_3$ ); 7,42 д (1 Н, Ar,  $J = 7,72$ ); 7,27 д (1 Н, Ar,  $J = 7,46$ ); 7,22 ддд (1 Н, Ar,  $J = 7,46$ ; 7,46; 1,20); 7,16 ддд (1 Н, Ar,  $J = 7,44$ ; 7,44; 1,20); 4,15 с (2 Н,  $CH_2$ ); 3,23 д (4 Н,  $2 \times CH_2CH_3$ ,  $J = 6,92$ ); 2,23 с (3 Н,  $CH_3$ ); 1,24 д (6 Н,  $2 \times CH_2CH_3$ ,  $J = 7,24$ ).

Модификация методики синтеза заключается в исключении стадии получения мономекаина гидрохлорида, предложенной ранее, и добавлении стадии очистки – перекристаллизации из ацетона.

### **Оборудование:**

Автоматический титратор TitroLine easy, снабженный магнитной мешалкой и комбинированным электродом

Газовый хроматограф CG-2010 (Shimadzu), оборудованный пламенно-ионизационным детектором

Масс-спектрометр серии MicrOTOF-Q II фирмы Bruker Daltonics (Бремен, Германия), оснащённый электроспрей источником ионизации, шестипортовым краном и устройством прямого ввода kd Scientific

ЯМР спектрометр Bruker Avance 500 МГц

УФ-спектрометр Perkin Elmer Lambda 45

ИК-Фурье спектрометр ALPHA-T с приставкой НПВО

Жидкостной хроматограф Agilent Technologies Series 1100, оборудованный диодно-матричным детектором, колонка «Kromasil 100-5 C 18»

Прибор для определения температуры плавления МЕТТЛЕР ТОЛЕДО FP-62

Пластинки для хроматографирования Сорбфил ПТСХ-АФ-А и ПТСХ-АФ-В-УФ размером 10×10 и 10×15

Камеры для хроматографирования – стеклянные с притертыми крышками, прямоугольные 5 × 15

Термогравиметрический анализатор (Дериватограф) TGA/DSC1 (METTLER TOLEDO (Швейцария))

pH-метр PB-11 Sartorius

Микроскоп биологический Юннат 2П-3, увеличение: 80х-800х  
окуляры: 10х, 20х; объективы: 8х, 20х, 40х

Лампа люминесцентная ОЛД-41

Йодная камера – стеклянная с притертой пробкой, цилиндрическая высотой 25 см, диаметром 10 см

Колбы мерные вместимостью 200, 500, 1000 мл

Цилиндры на 10, 50, 100 мл

Пипетки градуированные на 1, 2, 5, 10 мл

Микробюретка на 10 мл

Колбы для титрования на 50, 100, 250 мл

Микрошприц 0,01 мл

Пульверизатор

Пробирки

***Растворители:***

Аммиака раствор концентрированный 25 % (ГФ XII, часть 1, стр. 229)

Ацетон (ГФ XII, часть 1, стр. 239)

Ацетонитрил (ГФ XII, часть 1, стр. 239)

Бензол (ГФ XII, часть 1, стр. 242)

Бутанол (ГФ XII, часть 1, стр. 248)

Вода очищенная (ФС 42-0324-09)

Гексан (ГФ XII, часть 1, стр. 254)

Диметилформаид (ГФ XII, часть 1, стр. 269)

Диэтиламин (ГФ XII, часть 1, стр. 277)

Метанол (ГФ XII, часть 1, стр. 318)

Муравьиная кислота (ГФ XII, часть 1, стр. 329)

Спирт изопропиловый	(ГФ XII, часть 1, стр. 282)
Спирт этиловый 96%	(ГФ XII, часть 1, стр. 376)
Толуол	(ГФ XII, часть 1, стр. 389)
Уксусный ангидрид	(ГФ XII, часть 1, стр. 396)
Уксусная кислота ледяная	(ГФ XII, часть 1, стр. 397)
Хлороформ	(ГФ XII, часть 1, стр. 412)
Этилацетат	(ГФ XII, часть 1, стр. 421)
Эфир	(ГФ XII, часть 1, стр. 425)
<b>Реактивы:</b>	
Йод	(ГФ XII, часть 1, стр. 283)
Люголя раствор	(ГФ XII, часть 1, стр. 311)
Натрия лаурилсульфат (натрия додецилсульфат)	(ГФ XII, часть 1, стр. 336)
Пикриновая кислота	(ГФ XII, часть 1, стр. 352)
Реактив Драгендорфа	(ГФ XII, часть 1, стр. 359)
о-Толуидин	(ГФ XII, часть 1, стр. 388)
<b>Титрованные растворы:</b>	
0,1 М раствор калия гидроксида	(ГФ XII, часть 1, стр. 432)
0,001 М раствор натрия додецилсульфата	(ГФ XII, часть 1, стр. 434)
0,1 М раствор хлорной кислоты	(ГФ XII, часть 1, стр. 442)
<b>Индикаторы:</b>	
Диметиловый желтый	(ГФ XII, часть 1, стр. 267)
Кристаллический фиолетовый	(ГФ XII, часть 1, стр. 306)
Малахитовый зеленый	(ГФ XII, часть I, стр. 313)
Метиленовый синий	(ГФ XII, часть I, стр. 321)
Нейтральный красный	(ГФ XII, часть I, стр. 343)
Тропеолин 00	(ГФ XII, часть I, стр. 393)

Реактивы и титрованные растворы, использованные при разработке методик, описаны в ГФ XII издания [23].

## 2.2. Методы исследования

*Растворимость* субстанции Мономекаина определяли в соответствии с требованиями ГФ XII ОФС 42-0049-07 [69].

*Температуру плавления* БАС измеряли в соответствии с требованиями ГФ XII ОФС 42-0034-07 [64] на приборе МЕТТЛЕР ТОЛЕДО FP-62 автоматически с помощью оптоэлектронного датчика, на базе Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств».

*Прозрачность и цветность растворов, сульфатную золу, тяжелые металлы, хлориды, сульфаты и микробиологическую чистоту* определяли по методикам ОФС 42-0050-07, 42-0051-07, 42-0056-07, 42-0059-07, 42-0109-09, 42-0107-09, 42-0067-07, приведенным в ГФ XII изд. [70, 71, 72, 74, 85, 84, 75].

*Водородный показатель* измеряли потенциометрическим методом (ГФ XII ОФС 42-0048-07) [68].

*Константу ионизации* определяли потенциометрически по известной методике [78]. В качестве индикаторного электрода использовали стеклянный мембранный электрод, а электрода сравнения – хлорсеребряный. Расчет  $pK_a$  проводили по полученным значениям pH в соответствии с описанной методикой [2].

*Анализ методом ВЭЖХ* проводили на базе лаборатории Бюро судебно-медицинской экспертизы г. Екатеринбурга под руководством зав. химическим отделением Т.В. Макаренко. Программное обеспечение «Agilent ChemStation», автоматизированное управление работой прибора, сбора данных, количественной обработке информации и выводу сообщения результатов.

*Спектры поглощения в ИК области* сняты на приборе ИК-Фурье спектрометр ALPHA-T с приставкой НПВО и кюветным отделением для анализа жидкостей на базе лаборатории ИК спектроскопии Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН (зав. лабораторией Корякова О.В).

*Спектры поглощения в УФ области* получены в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН в лаборатории гетероциклических соединений под руководством младшего научного сотрудника Валовой М.С. в соответствии с требованиями ОФС 42-0042-07 ГФ XII изд. [65].

*ЯМР  $^1\text{H}$  спектр и хроматомасс-спектр* записаны в лаборатории комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов при ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» старшим научным сотрудником Т.С. Штукиной в соответствии с требованиями ОФС 42-0046-07 ГФ XII изд. [67].

Дифференциально-термический анализ выполнен на базе института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН под руководством научного сотрудника к.х.н. Вигорова А. Ю.

*Установление предварительных сроков годности методом «ускоренного старения»* проводили согласно требованиям ГФ XII ОФС 42-0075-07 [77].

Антимикробное действие и микробиологическую чистоту Мономекаина устанавливали на базе Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» под руководством врача-бактериолога Брацлавской Е.И.

## ГЛАВА 3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СПОСОБЫ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ МОНОМЕКАИНА

### 3.1. Физические свойства

#### Мономекаин

*Внешний вид.* 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат, полученный в лабораторных условиях, представляет собой белый кристаллический порошок, без запаха [76].

*Растворимость.* Растворимость определяли в соответствии с требованиями ГФ XII ОФС 42-0049-07 [69]. В результате исследований получены результаты, представленные в табл. 5.

Таблица 5

Растворимость Мономекаина в некоторых растворителях

Растворитель	Термин
Гексан	Растворим
Хлороформ	Растворим
Ацетон	Умеренно растворим
Спирт этиловый 95 %	Легко растворим
Вода очищенная	Легко растворим

По полученным данным можно сделать вывод, что Мономекаин легко растворяется в полярных растворителях: в воде и спирте этиловом, исключение – умеренная растворимость в ацетоне, растворим в неполярных растворителях – хлороформе и гексане.

*Температура плавления.* Температуру плавления образцов 10 серий БАС определяли в соответствии с требованиями ГФ XII ОФС 42-0034-07 [64]. Полученные и представленные в табл. 6 результаты позволяют установить температуру плавления Мономекаина в интервале 137-139 °С. Соединение плавится без разложения.

## Результаты определения температуры плавления Мономекаина

№ п/п	Серия БАС	№ пробы	Температура плавления, °С	Средняя температура, °С
1	141209	1	138,2	138,1
		2	137,8	
		3	138,2	
2	290110	1	138,8	138,1
		2	139,0	
		3	136,6	
3	190210	1	138,6	138,4
		2	138,4	
		3	138,1	
4	161211	1	138,9	138,8
		2	138,8	
		3	138,8	
5	010212	1	137,5	137,4
		2	137,3	
		3	137,4	
6	130612	1	137,0	137,0
		2	136,9	
		3	137,0	
7	230712	1	138,9	138,8
		2	138,8	
		3	138,8	
8	250712	1	137,8	138,4
		2	138,2	
		3	138,8	
9	050713	1	138,4	138,1
		2	137,7	
		3	137,9	
10	080813	1	137,9	138,2
		2	138,6	
		3	138,4	

*pH водных растворов.* Для установления значения pH готовили 1 % растворы Мономекаина в воде очищенной. Исследуемое соединение – соль, образованная слабым органическим основанием и сильной минеральной кислотой, значение pH водного раствора такого соединения должно быть меньше 7, что и подтверждают полученные результаты анализа 10 серий Мономекаина (Табл. 7).

Таблица 7

Значения pH 1 % водного раствора Мономекаина

Серия БАС	Значения pH	Среднее значение pH
141209	5,36; 5,37; 5,43	5,38
290110	5,12; 5,26; 5,09	5,16
190210	5,19; 5,33; 5,20	5,24
161211	5,23; 5,31; 5,26	5,27
010212	4,86; 4,96; 4,91	4,91
130612	4,91; 5,01; 5,08	5,00
230712	5,54; 5,80; 5,61	5,65
250712	5,38; 5,56; 5,36	5,43
050713	5,18; 5,26; 5,31	5,25
080813	5,44; 5,66; 5,71	5,60

Исходя из экспериментально полученных значений pH водного раствора Мономекаина, в проект ФС включено значение этого показателя в интервале 4,90-5,70 единиц pH.

### 3.2. Показатели и нормы качества

#### 3.2.1. Прозрачность и цветность растворов

Для определения прозрачности и цветности растворов исследуемого вещества использовали 1 % водные растворы и поступали в соответствии с требованиями ГФ XII ОФС 42-0051-07 и ОФС 42-0050-07 [71, 70]. Анализ

растворов, приготовленных из субстанции 10 серий Мономекаина, показал, что они были прозрачными и бесцветными (Табл. 8).

Таблица 8

Результаты исследования 1 % водных растворов Мономекаина по показателям прозрачность и цветность

Серия БАС	Прозрачность раствора	Цветность раствора
141209	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
290110	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
190210	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
161211	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
010212	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
130612	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
230712	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
250712	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
050713	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный
080813	Раствор прозрачный	Раствор бесцветный

Нормативные требования: 1 % водный раствор Мономекаина должен быть прозрачным и бесцветным.

### **3.2.2. Определение летучих веществ и воды (потеря в массе при высушивании)**

Определение потери в массе при высушивании проводили согласно требованиям ГФ XII ОФС 42-0087-08 [80]. Синтезированное БАС сушили при температуре 100 °С до постоянной массы, полученные результаты представлены в табл. 9, из которых следует, что потеря в массе Мономекаина не превышает 0,1 %.

## Значения потери в массе при высушивании

Серия БАС	Потеря в массе при высушивании, %
050713	0,085
	0,081
	0,079
080813	0,067
	0,069
	0,073
080114	0,065
	0,066
	0,068

*Гигроскопичность* Мономекаина определяли путем хранения в открытом бюксе в течение 7 дней при относительной влажности воздуха 60-70 %, после чего определяли потерю в массе при высушивании, которая составила от 0,005 до 0,008 % (Табл. 10). Полученные данные позволяют сделать вывод, что вещество не гигроскопично.

## Результаты исследования гигроскопичности Мономекаина

Серия БАС	Потеря в массе при высушивании, %
050713	0,008
	0,007
	0,008
080813	0,007
	0,006
	0,007
080114	0,006
	0,005
	0,005

### 3.2.3. Сульфатная зола и тяжелые металлы

Испытания проводили согласно требованиям статьи ГФ XII ОФС 42-0056-07 и ОФС 42-0059-07 [72, 74]. Из результатов исследований, представленных в табл. 11, следует, что масса сульфатной золы из 1 г вещества во всех испытаниях не превышает 0,04 %, кроме того исследуемое вещество выдерживает испытания на тяжелые металлы в сравнении с эталоном (эталонный раствор содержит 5 мкг/мл свинец-иона).

Таблица 11

Результаты исследования Мономекаина на содержание сульфатной золы и тяжелых металлов (n = 3)

Серия БАС	Содержание	
	Сульфатная зола, %	Тяжелые металлы
161211	0,0231	Не превышает эталона
010212	0,0099	Не превышает эталона
130612	0,0301	Не превышает эталона
230712	0,0168	Не превышает эталона
250712	0,0279	Не превышает эталона
050713	0,0107	Не превышает эталона
080813	0,0389	Не превышает эталона

### 3.2.4. Хлориды и сульфаты

*Методика:* Навеску субстанции Мономекаина (от 0,1 до 1,2 г) растворяли в 30 мл воды очищенной (свободной от хлоридов и сульфатов). В 10 мл приготовленного раствора проводили испытания на хлориды и сульфаты согласно требованиям ОФС 42-0109-09 [85] и ОФС 42-0107-09 (метод 1) [84] соответственно.

Содержание хлоридов в эталонном растворе – 2 мкг/мл (0,0002 %); сульфатов – 10 мкг/мл (0,001 %).

Исследования проведены на серии Мономекаина 170314 (Табл. 12).

Таблица 12

Результаты определения примесей хлоридов и сульфатов в Мономекаине (n = 3)

Навеска субстанции Мономекаина, г	Хлориды		Сульфаты	
	Результат определения	Соответствие содержанию в субстанции, %	Результат определения	Соответствие содержанию в субстанции, %
0,1	--			
0,2	--			
0,25	--			
0,3	-	менее 0,02	--	
0,6	+	более 0,02	--	
0,8			--	
0,9	+	более 0,02	-	менее 0,03
1,2	+	более 0,02	+	более 0,03

Примечание:

- + опалесценция в испытуемом растворе превышает опалесценцию эталонного раствора;
- опалесценция в испытуемом растворе не превышает опалесценцию эталонного раствора
- опалесценция отсутствует.

Полученные данные позволяют нормировать содержание в субстанции Мономекаина хлоридов не более 0,02 %, сульфатов – не более 0,03 %.

*Нормативное требование.*

**Хлориды.** Раствор субстанции 0,1 г в 10 мл воды должен выдерживать испытание на хлориды (не более 0,02 % в субстанции).

**Сульфаты.** Раствор субстанции 0,3 г в 10 мл воды должен выдерживать испытание на сульфаты (не более 0,03 % в субстанции).

Исследование 3-х серий субстанции Мономекаина на предельное содержание хлоридов и сульфатов показало их соответствие указанным показателям (Табл. 13).

Таблица 13

Результаты определения примесей хлоридов и сульфатов в лабораторных сериях Мономекаина (n = 3)

Серия	Результаты определения примесей	
	Хлориды	Сульфаты
170314	Не превышает эталона	Не превышает эталона
141209	Не превышает эталона	Не превышает эталона
010212	Не превышает эталона	Не превышает эталона

### 3.3. Спектральные характеристики

Как следует из литературных данных, спектральные характеристики занимают одно из основных мест в установлении подлинности ЛС. Это положение относится, прежде всего, к свойствам ЛС поглощать электромагнитное излучение в УФ области ближнего диапазона и ИК области среднего диапазона. Исходя из строения Мономекаина, содержащего в своей структуре замещенный ароматический радикал, можно предположить наличие максимума поглощения в области 190-380 нм за счет этого хромофора.

#### 3.3.1. УФ спектрофотометрия

В соответствии с ОФС 42-0042-07 ГФ XII издания [65] для разработки достоверной методики испытания на подлинность нового БАС методом УФ спектрометрии следует выбрать оптимальный растворитель, концентрацию исследуемого раствора, чтобы его оптическая плотность в максимуме поглощения находилась в интервале 0,2-0,8 при толщине поглощающего слоя 1 см. Желательно, чтобы испытуемое вещество было растворимо в избранном

растворителе, чтобы растворитель не был токсичным или легко летучим и не поглощал в той же области спектра, что и исследуемое вещество.

Исходя из результатов изучения растворимости следует, что Мономекаин легко растворим в полярных растворителях – воде очищенной, спирте этиловом 96 %, а также растворим в неполярных растворителях – в хлороформе и гексане.

*Выбор растворителя.* Готовили растворы 0,001 % концентрации в указанных растворителях и получали УФ спектры в диапазонах длин волн, выбранных с учетом спектральных характеристик растворителей – длин волн УФ спектра, ниже которых применение растворителя невозможно из-за его собственного поглощения в этой области спектра. Полученные результаты показали, что максимум в УФ спектре Мономекаина в водном растворе находится в области  $192 \pm 1$  нм – на границе опциональных способностей прибора, что весьма некорректно для включения в методику испытания на подлинность.

В методики испытаний ЛС из группы солей азотсодержащих соединений достаточно часто включаются УФ спектры, в которых в качестве растворителей использованы растворы кислот, которыми образована соль. Например, в случае гидрохлоридов в качестве растворителя используются растворы хлористоводородной кислоты различной концентрации. Поскольку Мономекаин является нитратом, нами в качестве растворителя для получения его УФ спектра взят 0,1 М раствор азотной кислоты. Полученные результаты показали, что в исследуемой области (190-350 нм) наблюдается достаточно интенсивное поглощение растворителя, полностью перекрывающего поглощение Мономекаина. Из этого следует, что использование в качестве растворителя 0,1 М раствора азотной кислоты для выявления максимума поглощения в УФ области Мономекаина также некорректно.

Для получения спектра в органических растворителях следует учитывать их границы пропускания в УФ области. Так, хлороформ прозрачен по разным данным от 240-250 нм, спирт этиловый от 200-210 нм [10, 63, 96]. Наблюдаемый максимум поглощения Мономекаина в хлороформе (250 нм) близок к границе пропускания растворителя и, очевидно, использование хлороформа в качестве

растворителя также некорректно. С учетом границы пропускания спирта этилового нами получен УФ спектр Мономекаина в области 220-350 нм, на котором наблюдается один максимум при 244 нм (Рис. 1), что соответствует поглощению хромофора – замещенного ароматического радикала (сопряженная  $\pi$ -электронная система). Способ испытания Мономекаина на основе максимума поглощения при 244 нм в спирте этиловом внесен нами в проект ФС.

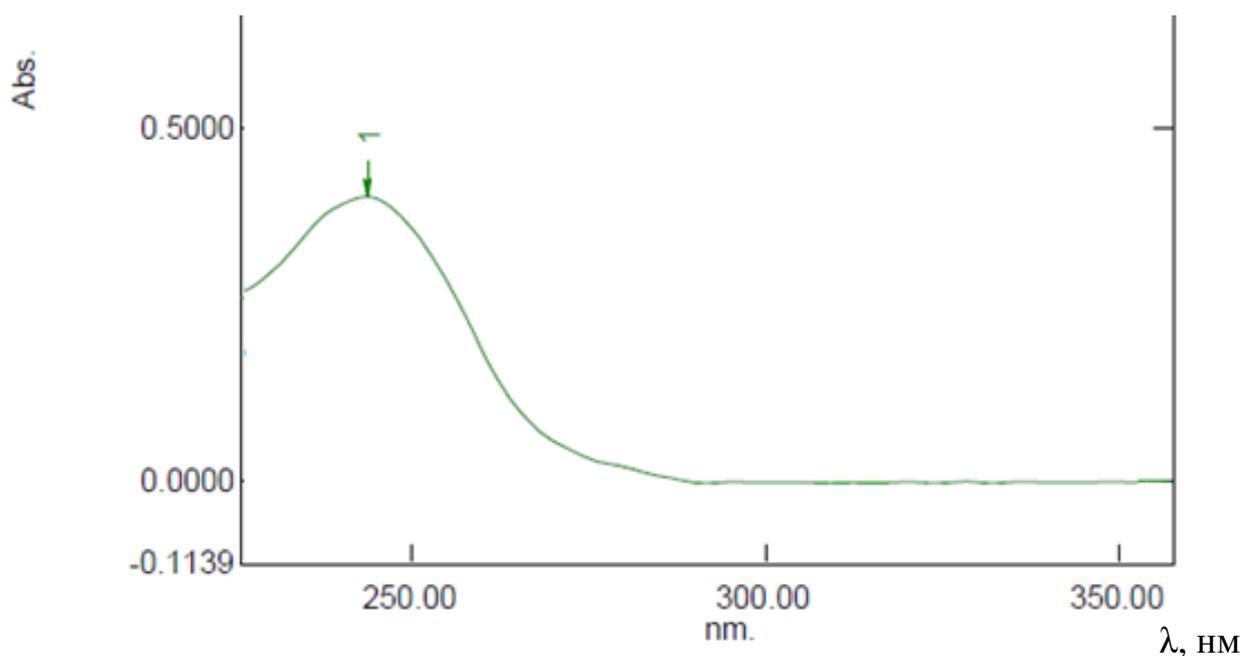


Рис. 1. УФ спектр 0,001 % раствора Мономекаина в спирте этиловом 96%

Рассчитанные значения  $A_{1\text{ см}}^{1\%}$  для серии концентраций растворов Мономекаина в спирте этиловом ( $\lambda_{\text{max}} = 244$  нм) представлены в табл. 14.

*Методика:* 0,01 г субстанции растворяют в 10 мл спирта этилового 96 %. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем спиртом до метки. Ультрафиолетовый спектр поглощения полученного раствора, снятый в области 220-350 нм, должен иметь максимум при  $244 \pm 1$  нм.

Одной из фотометрических характеристик ЛС, используемой в фармакопейном анализе при испытании на подлинность, является удельный показатель поглощения –  $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ .

Значения  $A_{1\text{ см}}^{1\%}$  для Мономекаина

С раствора, %	A (n = 3)	$A_{1\text{ см}}^{1\%}$	Метрологические характеристики
0,001	0,4236	423,60	$\bar{x} = 429,45$
0,0008	0,3418	427,25	$S = 4,0598$
0,0006	0,2587	431,16	$S_{\bar{x}} = 1,8156$
0,0004	0,1725	431,25	$\Delta\bar{x} = 5,047$
0,0002	0,0868	434,00	$\bar{\varepsilon} = 1,1753$

Среднее значение  $A_{1\text{ см}}^{1\%} = 429,45$ . Согласно результатам статистической обработки, возможно нормирование этого показателя в пределах значений 424-434. Как следует из рис. 2, наблюдается линейная зависимость оптической плотности в пределах исследуемых концентраций БАС, что свидетельствует о подчинении основному закону светопоглощения и о возможности использования полученных результатов в практике фармацевтического анализа исследуемого БАС. Значение удельного показателя поглощения может быть использовано как при установлении подлинности, так и при количественном определении Мономекаина, например, в случае оценки количественного содержания его в лекарственных формах (раствор для инъекций, таблетки), в виде которых Мономекаин может быть рекомендован для медицинской практики.

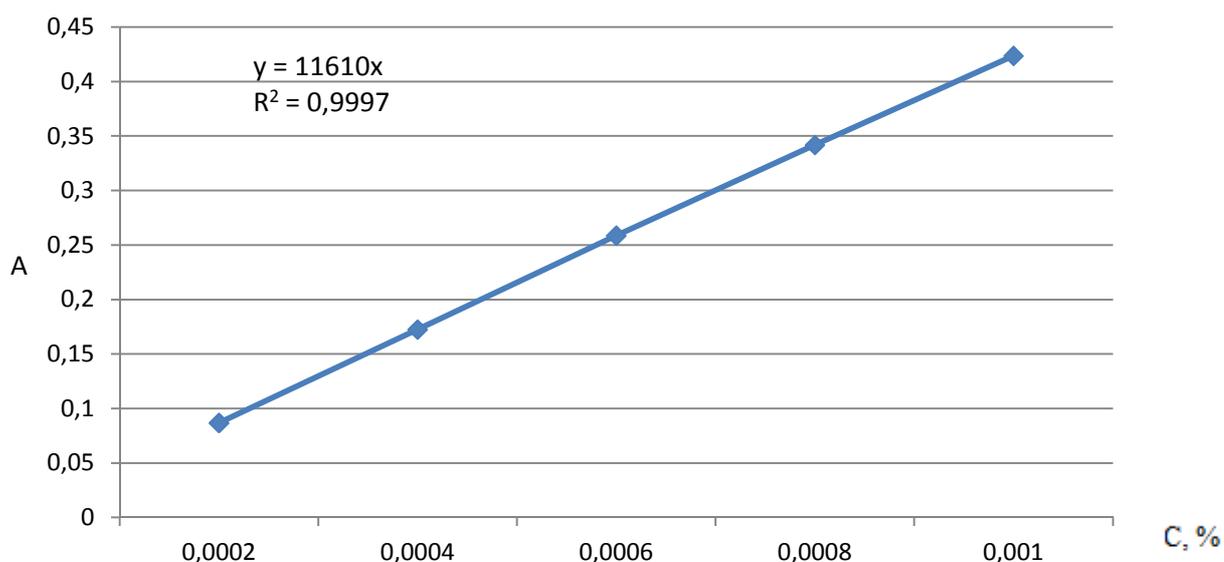


Рис. 2. График зависимости оптической плотности растворов Мономекаина от его концентрации

### 3.3.2. ИК спектроскопия

Инфракрасные колебательные спектры возникают вследствие поглощения электромагнитной энергии при колебаниях ядер атомов в молекулах или ионах, которые сопровождаются изменением дипольных моментов, и представляют собой зависимость пропускания от длины волны ( $\lambda$ ) или частоты колебаний (ОФС 42-0043-07) [66].

Как показал анализ ФС, представленных в ГФ XII издания, в подавляющем их количестве ИК спектры получены в виде дисков с калия бромидом в области  $4000-400 \text{ см}^{-1}$ .

В нашем случае ИК спектр зарегистрирован в виде диска, содержащего 1 мг исследуемого БАС и 200 мг калия бромида, который получали в соответствии с требованиями ОФС 42-0043-07 на приборе ИК Фурье спектрометре ALPHA-T с приставкой НПВО. Полосы поглощения в полученном ИК спектре подтверждают строение Мономекаина (Рис. 3).

Наличие полос в области  $3240-3110 \text{ см}^{-1}$  обусловлено валентными колебаниями N-H связей, более интенсивная полоса при  $3030 \text{ см}^{-1}$  соответствует колебаниям C-H связей ароматического кольца, при  $2990-2850 \text{ см}^{-1}$  поглощают C-H связи алифатических заместителей  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$ .

Интенсивная узкая полоса  $1690 \text{ см}^{-1}$  – это, так называемая, полоса «амид-I», которая характеризует карбонильную группу амидного заместителя.

Частота  $1537 \text{ см}^{-1}$  соответствует комбинации деформационных колебаний NH и OCN в разных фазах, причем главную роль играет угловое смещение атома водорода (полоса амид-II), которую обычно относят к деформационным колебаниям NH. К валентным колебаниям C-N связи относится полоса при  $1261 \text{ см}^{-1}$  (полоса амид-III), слабые полосы в области  $690, 620$  и  $590-600 \text{ см}^{-1}$  можно приписать внеплоскостным деформационным колебаниям NH (амид V) и скелетным колебаниям амидной группировки (амид IV и амид VI), соответственно.

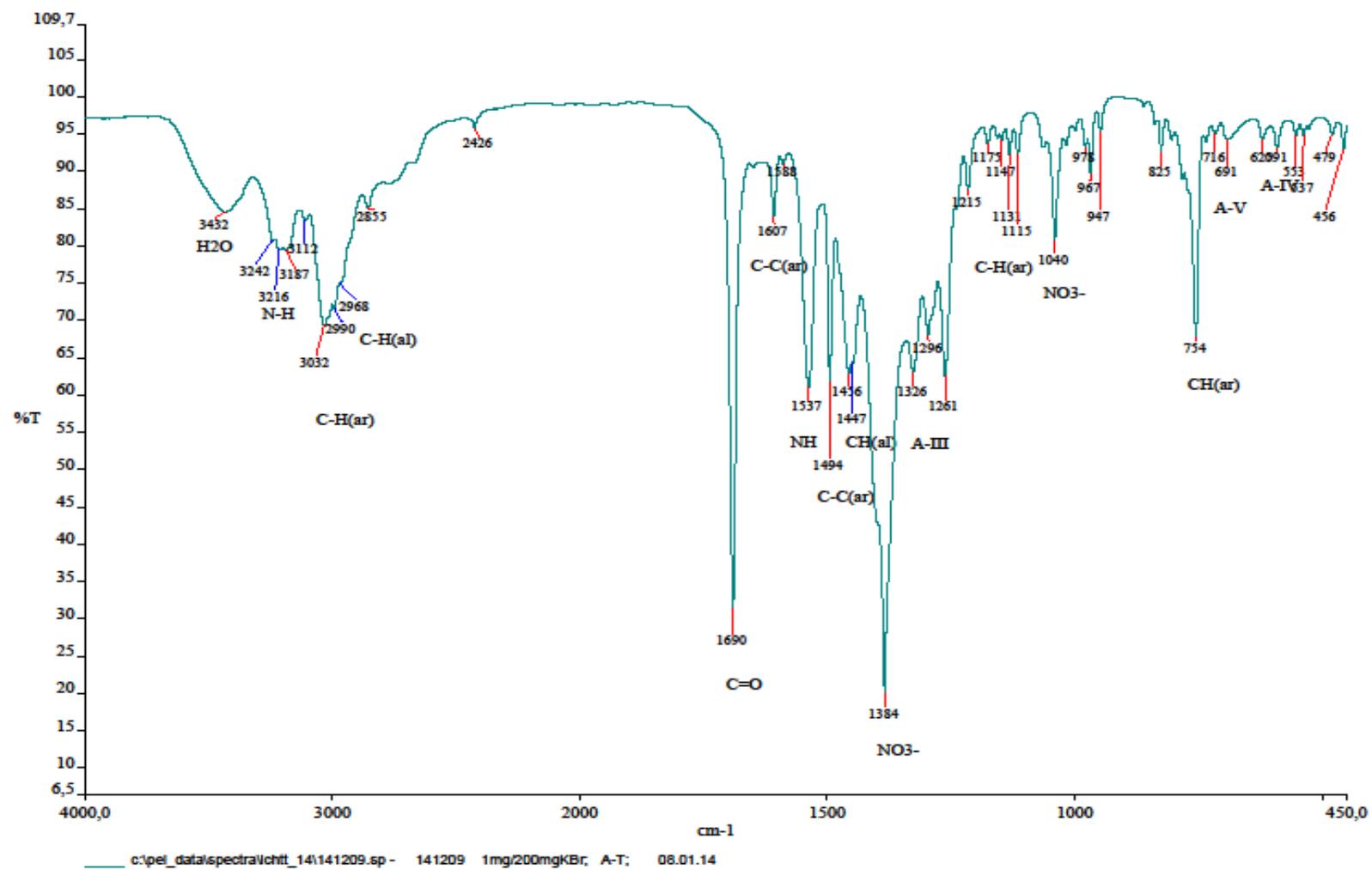


Рис. 3. ИК спектр Мономекаина

Три полосы 1607, 1588 и 1494  $\text{см}^{-1}$  являются характеристическими колебаниями бензольного кольца. Дублет с максимумами 1456 и 1447  $\text{см}^{-1}$  является следствием суперпозиции валентных колебаний С-С связей ароматического кольца и деформационных колебаний  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$  групп. К внеплоскостным деформационным колебаниям С-Н связей кольца относится полоса средней интенсивности 754  $\text{см}^{-1}$ , а группа слабых полос в области 1100-1200  $\text{см}^{-1}$  является следствием плоскостных деформационных колебаний С-Н связей ароматического кольца.

Валентные колебания нитрат-иона проявляются в виде интенсивной полосы 1384  $\text{см}^{-1}$  и более слабой – 1040  $\text{см}^{-1}$ , а деформационные – в виде слабой полосы 825  $\text{см}^{-1}$  [108].

С учетом значимости метода в фармакопейном анализе и специфичности ИК спектра как способа идентификации любого соединения, нами введена эта характеристика в проект ФС на субстанцию Мономекаина.

### 3.3.3. ЯМР $^1\text{H}$ спектроскопия

В спектре ЯМР  $^1\text{H}$ , снятом в растворе ДМСО- $\text{D}_6$  (внутренний стандарт ТМС) (Рис. 4), наблюдаются следующие сигналы: при 9,96 м.д. однопротонный синглет, соответствующий протону при третичном атоме азота; при 9,45 м.д. уширенный синглет NH группы; мультиплет четырех ароматических протонов в области 7,42-7,16 м.д.; при 4,15 м.д. двухпротонный синглет  $\text{CH}_2$  группы; при 3,23 м.д. кватер, соответствующий протонам двух эквивалентных  $\text{CH}_2$  групп; при 2,23 м.д. синглет трех протонов  $\text{CH}_3$  группы; при 1,24 м.д. сигнал, соответствующий протонам двух эквивалентных  $\text{CH}_3$  групп [96].

Количество сигналов, значения химических сдвигов и интегральные интенсивности не противоречат предложенной структуре и свидетельствуют об индивидуальности образца, исходя из чего получение ЯМР  $^1\text{H}$  спектра использовано нами как способ контроля чистоты синтезируемых экспериментальных образцов субстанций исследуемого БАС.

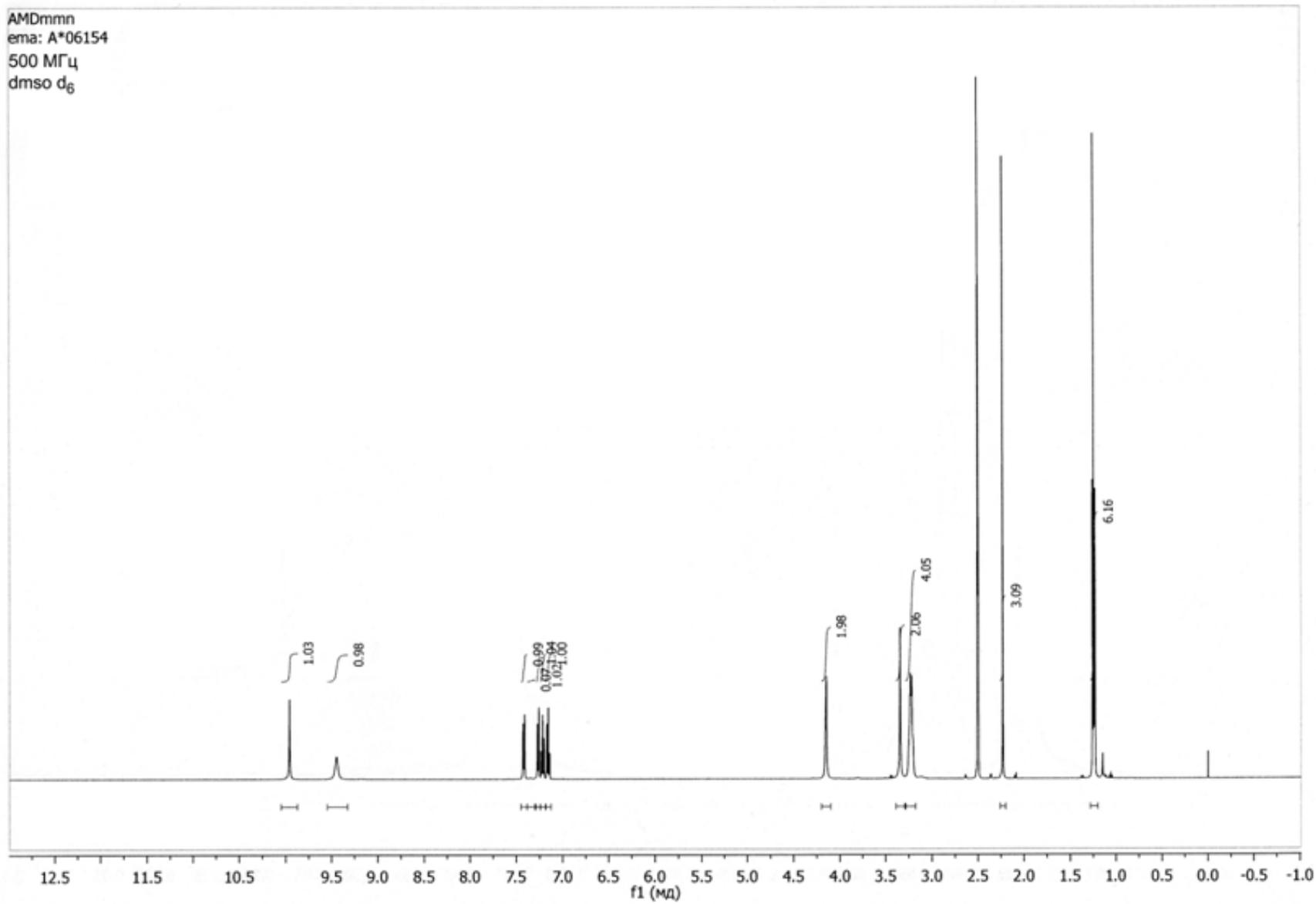


Рис. 4. ЯМР  $^1\text{H}$  спектр Мономекаина

Комплекс спектральных характеристик может быть использован для достоверной оценки качества Мономекаина как в процессе его исследования, так и для последующего контроля качества в соответствии с методиками, включенными в стандарт качества – фармакопейную статью.

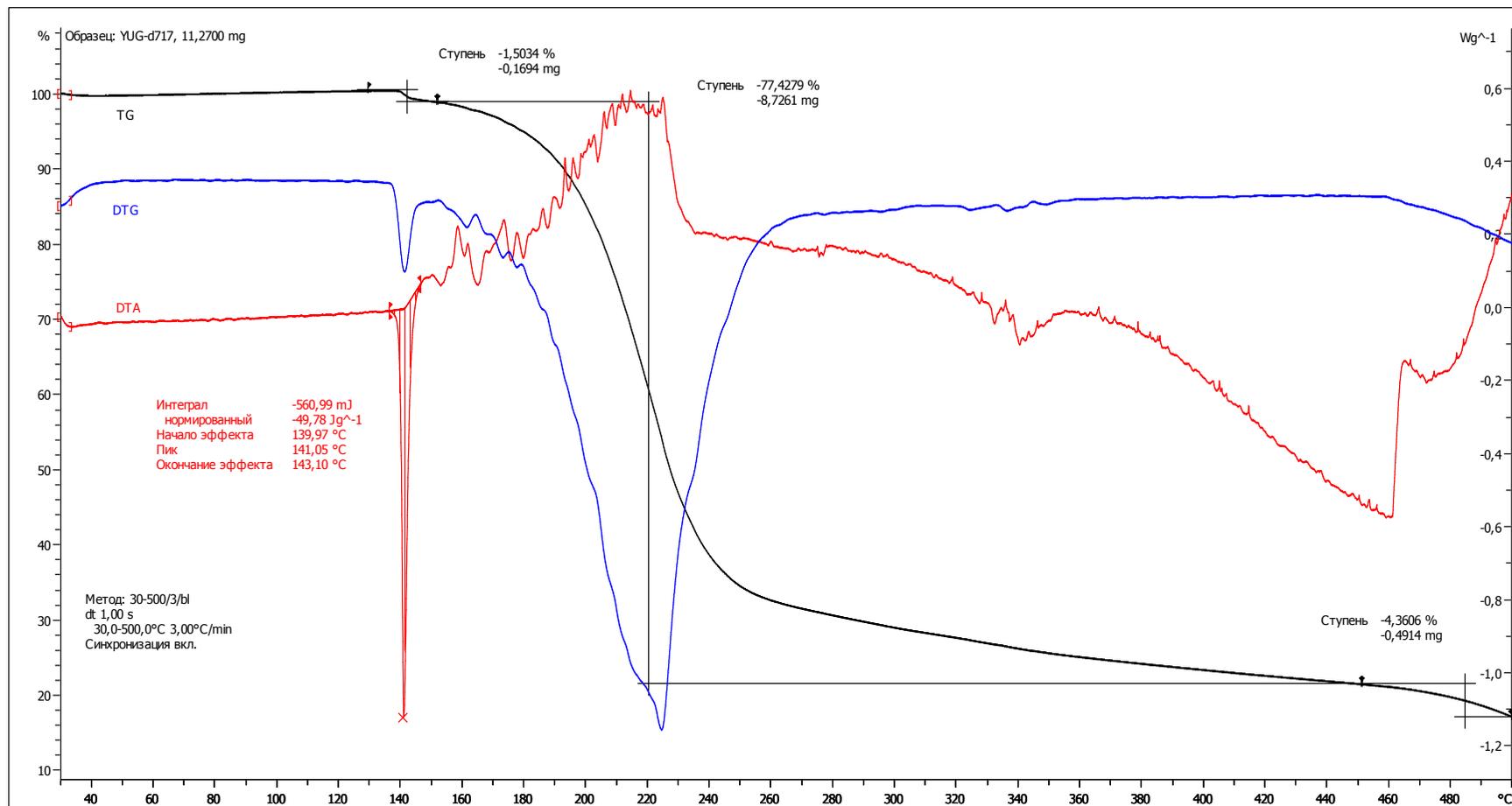
### 3.4. Дериватографическое исследование

Термические методы используются при исследовании различных классов соединений и материалов. Одной из разновидностей термического анализа является дериватография, сущность которой заключается в регистрации изменений, происходящих с исследуемым образцом (дегидратация, плавление, термическая деструкция и др.) при его непрерывном нагревании [92].

В фармацевтическом анализе дериватография нашла применение для установления степени чистоты лекарственных средств, определения некоторых их физико-химических характеристик [60, 94, 95], возможных путей их превращения при хранении, в контроле качества лекарств [44].

Термическую устойчивость Мономекаина изучали на приборе TGA/DSC1 METTLER TOLEDO в интервале 30-500 °С, в среде воздуха, скорость повышения температуры равна 3 °С/мин. Плавная потеря массы (1,5 %) образца наблюдается в интервале температур 139,97-141,05 °С после его плавления, что можно объяснить испарением остатка растворителя, в котором кристаллизовали вещество. Этап плавления и потери массы образца сопровождается эндотермическим эффектом, энтальпия которого равна 49,78 Дж/г (Рис. 5).

Затем до температуры 272 °С происходит быстрое (-8,44 %/мин) снижение массы образца на 68 %, сопровождающееся до температуры 225 °С серией мелких экзотермических эффектов – результат окисления образующихся фрагментов. Плавное снижение массы образца (на 9 %) наблюдается до температуры 450 °С. Серия эндотермических сигналов в указанном интервале температур является следствием испарения образующихся фрагментов.



Lab: METTLER

STAR® SW 9.30

Рис. 5. Дериватограмма Мономекаина нитрата

TG – термогравиметрическая кривая (потеря массы)

DTG – дифференциальная термогравиметрическая кривая (скорость потери массы)

DTA – дифференциальная кривая, характеризующая термические эффекты

В среде гелия плавление образца (140,9 °С) сопровождается снижением его массы на 3,6 % до температуры 193,5 °С. Площадь эндотермического эффекта при этом больше, чем в случае плавления в атмосфере воздуха и равна -69,87 Дж/г. Затем скорость потери массы возрастает и до 206,7 °С составляет 16,4 %.

Можно предположить, что потеря массы образца является результатом термоллиза вещества по связям С-N и выделения фрагмента уксусной кислоты (расчет 15,9 %). После небольшого замедления процесса деструкции до температуры 230,0 °С скорость потери массы образца возрастает (-8,16 %/мин) и до температуры 273,7 °С в тигле остается 22,4 % массы образца, который начинает медленно окисляться при температуре 470 °С, о чем свидетельствует интенсивный экзотермический эффект.

В интервале 163,0-193,3 °С наблюдается серия узких экзоэффектов (площадь, соответственно, -27,32 и -96,99 Дж/г), природу которых, можно объяснить результатом окисления фрагментов деструкции вещества оксидами азота или азотной кислотой.

Термическое поведение основания вещества – 2-метиланилида диэтиламиноэтановой кислоты на воздухе представляет собой одностадийное разложение в интервале температур 75-460 °С (98,7 °С), сопровождающееся широким экзоэффектом до 225 °С и сигналами при 306,6 (29,16 Дж/г), 332 и 416,7 °С.

Дериватограмма любого соединения представляет собой индивидуальную картину и наравне со спектрами в УФ и ИК областях может быть использована как один из способов доказательства подлинности и чистоты.

Поскольку в дериватограмме присутствует эндозффект, соответствующий температуре плавления соединения, метод может быть использован для подтверждения данных, полученных для этой характеристики другими способами.

Одним из способов уничтожения непригодных к медицинскому применению лекарственных средств является их термическая деструкция, поэтому термогравиметрическая кривая соединения, на которой отражается

потеря массы при нагревании соединения в заданных параметрах его исследования, может служить основой для предварительного прогнозирования параметров этого процесса.

### 3.5. Химические свойства. Реакции подлинности

При разработке химических реакций подлинности исходили из свойств функциональных групп и фрагментов структуры исследуемого БАС: третичной аминогруппы, амидной группы, замещенного ароматического радикала, аниона кислоты, солью которой является анализируемое соединение. Исходя из этого, предложен комплекс осадительных и цветных реакций, отражающих химические свойства Мономекаина.

Определение третичной алифатической аминогруппы проводили с помощью общеалкалоидных осадительных реактивов: Драгендорфа, Бушарда-Вагнера, пикриновой кислоты.

С реактивом Драгендорфа (калия тетраiodовисмутат (III) –  $K[BiI_4]$ ) Мономекаин образует осадок красно-оранжевого цвета. 0,03 г анализируемого вещества растворяют в 3 мл воды и прибавляют 3-5 капель реактива Драгендорфа; выпадает осадок красно-оранжевого цвета (предел обнаружения 0,4 мг). Под микроскопом наблюдаются прозрачные кубические кристаллы (Рис. 6).



Рис. 6. Кристаллы Мономекаина с реактивом Драгендорфа

С реактивом Бушарда-Вагнера. 0,05 г анализируемого вещества растворяют в 3 мл воды и прибавляют 3-5 капель реактива Бушарда-Вагнера; выпадает осадок красно-бурого цвета (предел обнаружения 1,5 мг).

С пикриновой кислотой образуется желтый осадок. 0,05 г анализируемого вещества растворяют в 3 мл воды и прибавляют 3-5 капель пикриновой кислоты; выпадает желтый кристаллический осадок (предел обнаружения 2,5 мг).

Под микроскопом наблюдают ветвистые кристаллы желтого цвета (Рис. 7).

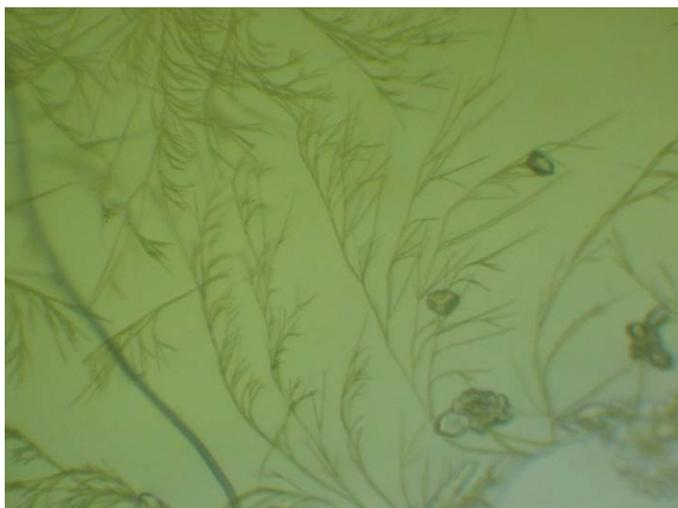


Рис. 7. Кристаллы пикрата Мономекаина

Амидную группу идентифицировали по реакции гидролитического разложения с последующим доказательством продуктов реакции. Гидролитическое разложение проводили в присутствии хлороводородной кислоты при нагревании: при этом образуется исходный продукт синтеза 2-метиланилин, который доказывали по реакции диазотирования с последующим азосочетанием, характерной для первичных ароматических аминов, а также по реакции конденсации образования основания Шиффа с *n*-диметиламинобензальдегидом.

Для выполнения реакции 0,05 г анализируемого вещества растворяют в растворе хлороводородной кислоты и кипятят в течение 10 минут, затем охлаждают и прибавляют 2 мл 1 % раствора натрия нитрита; полученный раствор прибавляют к 1 мл щелочного раствора  $\beta$ -нафтола; образуется осадок красно-оранжевого цвета.

Гидроксамовая реакция сопровождается гидроксиламинолизом с образованием амина и гидроксамовой кислоты, которую доказывали по реакции комплексообразования с железа (III) хлоридом, наблюдали образование комплекса красно-бурого цвета.

Для выполнения реакции 0,05 г анализируемого вещества растворяют в 2 мл воды очищенной и прибавляют 1 мл свежеприготовленного щелочного раствора гидроксиламина гидрохлорида. Смесь оставляют на 20-30 минут, затем прибавляют 5 капель раствора хлористоводородной кислоты и 3-4 капли раствора железа (III) хлорида, появляется красно-бурое окрашивание.

Нитрат-ион идентифицировали по унифицированным методикам, приведенным в ГФ XII с дифениламином и с медью металлической.

С дифениламином: 0,01 г исследуемого вещества растворяют в 1 мл воды, прибавляют 2 капли раствора дифениламина; появляется синее окрашивание.

С медью металлической: к 0,02 г исследуемого вещества прибавляют по 2–3 капли воды и серной кислоты концентрированной, кусочек металлической меди и нагревают; выделяются пары бурого цвета.

Нами определена чувствительность каждой из выше перечисленных реакций. Для этого исходный 1 % раствор последовательно разбавляли до тех пор, пока взятый для выполнения реакции объем раствора анализируемого БАС еще давал положительную реакцию. В табл. 15 приведены эффекты реакций подлинности Мономекаина и результаты определения чувствительности каждой из них.

Исходя из исследований, приведенных в этом разделе, мы сочли возможным включить в проект ФС на Мономекаин в раздел, касающийся испытаний на подлинность, реакцию образования азокрасителя после предварительного гидролиза БАС в среде хлористоводородной кислоты, а также реакцию окисления дифениламина нитрат-ионом.

## Реакции подлинности Мономекаина, их эффекты и чувствительность

Реактив	Эффект	Чувствительность, мг
Драгендорфа	Кристаллический осадок красно-оранжевого цвета (в поле зрения микроскопа – кристаллы кубической формы)	0,4
Бушарда-Вагнера	Кристаллический осадок красно-бурого цвета	1,5
Пикриновая кислота	Кристаллический осадок желтого цвета (в поле зрения микроскопа – ветвистые кристаллы желтого цвета)	2,5
Дифениламин	Синее окрашивание	0,05
Хлористоводородная кислота ( $> t^0$ ), натрия нитрит, $\beta$ -нафтол	Азокраситель красно-оранжевого цвета	0,5
Хлористоводородная кислота ( $> t^0$ ), <i>n</i> -диметиламинобензальдегид	Основание Шиффа ярко-желтого цвета	0,2
Щелочной раствор гидроксиламина гидрохлорида, хлористоводородная кислота, железа (III) хлорид	Комплекс красно-бурого цвета	5,0

### 3.6. Микробиологическая чистота

Субстанция Мономекаина предназначена для изготовления и исследования нестерильных ЛФ, поэтому к ней могут быть предъявлены требования ОФС 42-0067-07 [75], касающиеся ЛС категории 2.2. В них допускается наличие лимитированного количества микроорганизмов, при отсутствии определенных видов бактерий, представляющих опасность для здоровья человека. Для субстанций синтетического происхождения, предназначенных для производства нестерильных препаратов, ОФС 42-0067-07 [75] устанавливает следующие нормативные требования: общее число

аэробных бактерий не более  $10^3$ , общее число грибов не более  $10^2$  и отсутствие *Escherichia coli* в расчете на 1 г испытуемого соединения.

В соответствии с этими требованиями проведено испытание субстанции Мономекаина в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» (г. Екатеринбург).

Для корректной оценки микробиологической чистоты БАС необходима проверка его антимикробной активности. Проведенные испытания, результаты которых представлены в табл. 16, показывают, что субстанция Мономекаина не обладает антимикробной активностью (Протокол испытания Приложение 2).

Таблица 16

Результаты определения антимикробной активности субстанции Мономекаина

Разведение субстанции Мономекаина	Тест-штаммы				
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>St. aureus</i>
1:10	–	+	+	+	+
1:50	+	+	+	+	+
1:100	+	+	+	+	+
1:500	+	+	+	+	+

+ наличие роста тест-штаммов; – отсутствие роста тест-штаммов

Результаты исследования на микробиологическую чистоту показали, что общее число аэробных бактерий не более  $10^1$ , общее число грибов не более  $10^1$  и *Escherichia coli* в расчете на 1 г испытуемого соединения не обнаружены. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что по показателю «Микробиологическая чистота» субстанция Мономекаина удовлетворяет требованиям ГФ XII ОФС 42-0067-07 (Протокол испытания Приложение 3).

### Выводы по главе 3

1. В результате изучения физико-химических свойств экспериментальных серий Мономекаина для оценки качества субстанции выбраны следующие общие показатели: описание, растворимость, температура плавления, прозрачность и цветность раствора, содержание летучих веществ и воды, сульфатной золы и тяжелых металлов, хлоридов и сульфатов, которые введены в проект ФС на субстанцию.
2. Определены спектральные характеристики Мономекаина. В 0,001 % растворе спирта этилового 96 % максимум поглощения находится при  $244 \pm 1$  нм, рассчитанное значение удельного показателя поглощения  $A_{1\text{ см}}^{1\%} = 424-434$ . Идентифицированы основные полосы поглощения Мономекаина в ИК области. Значение максимума поглощения в УФ области и характеристика Мономекаина по ИК спектру введены в проект ФС. Количество сигналов, значения химических сдвигов и интегральной интенсивности ЯМР  $^1\text{H}$  спектра свидетельствуют об индивидуальности соединения, исходя из чего в процессе синтеза образцов Мономекаина, предназначенного для экспериментальных исследований, их ЯМР  $^1\text{H}$  спектры использованы как способ контроля чистоты получаемого БАС.
3. Дериватографическими исследованиями установлены термические характеристики БАС, которые могут быть использованы в исследовании и оценке его качества.
4. Разработаны методики определения функциональных групп, входящих в состав молекулы исследуемого БАС. Реакция образования азокрасителя после предварительного кислотного гидролиза амидной группы и реакция окисления дифениламина нитрат-ионом введены в проект ФС на Мономекаин.
5. Микробиологические испытания субстанции показали, что Мономекаин не обладает антимикробным действием, а по показателю «микробиологическая чистота» соответствует требованиям, предъявляемым к субстанциям синтетического происхождения категории 2.2.

## **ГЛАВА 4. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ МОНОМЕКАИНА НА СОДЕРЖАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ**

Одним из этапов исследования БАС при разработке его стандарта качества является установление природы и допустимого предела содержания общих и специфических примесей. К разряду специфических примесей относятся полупродукты синтеза, возможные продукты деструкции БАС, а также органические растворители, использующиеся на различных стадиях синтеза и последующей очистке БАС.

Анализ ФС на ЛС, относящихся к производным анилидов аминокарбоновых кислот: лидокаина, тримекаина, бупивакаина показывает, что в их субстанциях в качестве специфических («посторонних») примесей контролируется содержание исходных продуктов синтеза – метилированных замещенных анилина (мезидин и ксилидин).

Одним из исходных продуктов синтеза Мономекаина является *o*-толуидин, который относится ко второму классу опасности и его содержание должно быть нормировано.

### **4.1. Установление предельного содержания *o*-толуидина в Мономекаине методами ТСХ и ВЭЖХ**

#### **4.1.1. Метод тонкослойной хроматографии**

ТСХ является одним из распространенных методов фармацевтического анализа. С его помощью можно установить подлинность ЛС, определить наличие и предельное содержание специфических примесей в их субстанциях [8, 23].

На начальной стадии эксперимента решали задачи поиска оптимальных условий хроматографирования Мономекаина: выбор состава подвижной фазы, способа его обнаружения (детектирования) на хроматограмме, установление чувствительности избранных способов детектирования.

Исследование проводили, используя Мономекаин серии 141209.

В качестве сорбента служили пластинки «Сорбфил» на алюминиевой основе ПТСХ-АФ-А размером 10×10.

Для выбора подвижной фазы исследованы 49 систем растворителей, описанных в литературе для анализа азотсодержащих органических оснований и их солей (Табл. 17) [16, 23, 35, 61, 139].

Хроматографирование проводили с помощью общепринятых операций, характерных для ТСХ [23]. На линию старта с помощью микрошприца наносили 0,02 мл (100 мкг) 0,5 % раствора Мономекаина в спирте этиловом.

Для обнаружения Мономекаина апробировали облучение хроматограмм УФ светом, обработкой парами йода (йодная камера) и реактивом Драгендорфа. Оказалось, что зоны Мономекаина не флуоресцируют в УФ свете, поэтому для установления чувствительности обнаружения его на хроматограмме использовали реактив Драгендорфа и обработку парами йода. Эксперимент проводили на примере двух систем: толуол : ацетон : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (45 : 45 : 7,5 : 2,5) и бензол : диизопропилэтиламин (DIPEA) (3 : 0,05). Установлено, что чувствительность обнаружения Мономекаина составляет: с реактивом Драгендорфа 1 мкг, при обработке парами йода – 5 мкг.

Таблица 17

## Результаты исследования Мономекаина методом ТСХ

№ п/п	Состав подвижной фазы	Сорбфил ПТСХ-АФ-А 10×10	
		R <sub>f</sub> (n=3)	Время хроматографирования, мин
1	2	3	4
1	хлороформ : спирт метиловый (1 : 1)	0,65 <sup>1</sup>	22
2	бензол : спирт метиловый (8 : 2)	0,66 <sup>1</sup>	14
3	спирт метиловый : вода (7 : 3)	0,56 <sup>1</sup>	22
4	спирт метиловый : аммиак (99 : 1)	0,67	25
5	спирт метиловый : аммиак (95 : 5)	0,68	31
6	ацетон : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (1 : 1 : 0,03)	0,69	16
7	этилацетат : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (17 : 6 : 5)	0,80	22
8	бензол : ацетон (100 : 10)	0,25	13

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4
9	бензол : спирт этиловый (9 : 1)	0,48 <sup>1</sup>	14
10	бензол : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (95 : 15 : 5)	0,29 <sup>1</sup>	12
11	бензол : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (40 : 10 : 0,15)	0,25 <sup>1</sup>	14
12	спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (8 : 2)	0,84	64
13	спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (97 : 3)	0,56	45
14	спирт этиловый : вода : аммиака раствор 25 % (97 : 3 : 3)	0,83	25
15	хлороформ : спирт этиловый (8 : 2)	0,73 <sup>1</sup>	17
16	хлороформ : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (9 : 1 : 1)	0,79	19
17	вода : ацетон : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (30 : 1 : 10 : 5)	0,95 <sup>1</sup>	32
18	вода : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % : хлороформ (30 : 10 : 5 : 1)	0,88 <sup>1</sup>	49
19	изо-пропанол : аммиака раствор 25 %: вода (20 : 1 : 2)	0,49 <sup>1</sup>	73
20	н-бутанол : аммиака раствор 25 % (9 : 1)	0,66	78
21	бензол : ацетон (95 : 5)	0,241	12
22	бензол : ацетон : аммиака раствор 25 % (50 : 10 : 5)	0,451	13
23	хлороформ : ацетон : диэтиламин (5 : 4 : 1)	0,76	18
24	ацетон : аммиака раствор 25 % (95 : 5)	0,65	11
25	хлороформ : ацетон : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (20 : 20 : 3 : 1)	0,68	18
26	хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (6 : 1 : 0,1)	0,86	27
27	хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (2 : 1 : 0,1)	0,68	26
28	толуол : ацетон : спирт этиловый : аммиака раствор 25 % (45 : 45 : 7,5 : 2,5)	0,66	14
29	хлороформ : диэтиламин (9 : 1)	Нет четко сформированного пятна	15
30	бензол : ацетон : эфир : аммиака раствор 25 % (4 : 6 : 1 : 0,3)	0,59 <sup>1</sup>	10
31	бензол : этилацетат : диэтиламин (7 : 2 : 1)	0,56	13
32	толуол : эфир : аммиака раствор 25 % (96 : 3 : 1)	0,1	12

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4
33	хлороформ : ацетон (3 : 1)	0,62 <sup>1</sup>	14
34	хлороформ : ацетон (9 : 1)	0,66 <sup>1</sup>	15
35	бензол : этилацетат (24 : 1)	0,11	13
36	бензол : этилацетат (1 : 1)	0,86	21
37	бензол : этилацетат : ацетон (100 : 5 : 0,5)	0,12	13
38	бензол : этилацетат : (DIPEA) (7 : 3 : 0,1)	0,76	24
39	бензол : этилацетат : DIPEA (9: 1 : 0,1)	0,67	26
40	бензол : DIPEA (3 : 0,05)	0,3	28
41	гексан : этилацетат (1 : 1)	0,38	15
42	гексан : этилацетат (9 : 1)	0,1	13
43	гексан : ацетон : уксусная кислота (20 : 10 : 0,1)	0,45	10
44	хлороформ : спирт этиловый : этилацетат (8 : 1 : 1)	0,36 <sup>1</sup>	16
45	хлороформ : спирт этиловый : этилацетат (5 : 2 : 2)	0,38 <sup>1</sup>	19
46	хлороформ : спирт метиловый (9 : 1)	0,71 <sup>1</sup>	13
47	бензол : спирт метиловый (9 : 1)	0,59	16
48	бензол : ацетон (100 : 2)	0,15	12
49	бензол : ацетон (1 : 1)	0,65 <sup>1</sup>	9

<sup>1</sup> – пятна имеют удлиненную форму

При оценке хроматограмм по форме зон исследуемых веществ и их расположению выбраны 6 систем растворителей № 14, 26, 27, 38, 39, 40, при использовании которых на хроматограмме образуются компактные четкие пятна, с отсутствием «хвостов», оптимальным временем проведения анализа и значением коэффициента хроматографической подвижности. Это смеси, содержащие следующие растворители: спирт этиловый : вода : аммиака раствор 25 % (94 : 3 : 3); хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (6 : 1 : 0,1); хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (2 : 1 : 0,1); бензол : этилацетат : DIPEA (7 : 3 : 0,1); бензол : этилацетат : DIPEA (9 : 1 : 0,1); бензол : DIPEA (3 : 0,05).

Выбранные системы исследовали для установления содержания специфической примеси *o*-толуидина в субстанции Мономекаина.

Хроматографирование проводили на пластинках ТСХ с УФ-индикатором (Sorbfil, марка пластин ПТСХ-АФ-В-УФ, силикагель СТХ-1ВЭ, длина волны УФ возбуждения 254 нм), нанося на линию старта по 0,02 мл (20 мкг) 0,1 % растворов исследуемых веществ в спирте этиловом. Зоны исследуемых веществ обнаруживали с помощью люминесцентной лампы, в их расположении наблюдали темные пятна на светло-фиолетовом флуоресцирующем фоне. Полученные результаты представлены в табл. 18.

Таблица 18

Результаты хроматографического исследования Мономекаина и *o*-толуидина в избранных системах растворителей

№	Состав подвижной фазы	Время хроматографирования, мин	Значения R <sub>f</sub> (n=3)	
			Мономекаина	<i>o</i> -толуидина
1	Спирт этиловый: вода: аммиака раствор 25 % (94 : 3 : 3)	25	0,82-0,85	0,78-0,82
2	Хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (6 : 1 : 0,1)	27	0,83-0,86	0,84-0,85
3	Хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (2 : 1 : 0,1)	26	0,65-0,70	0,64-0,68
4	Бензол : этилацетат : DIPEA (7 : 3 : 0,1)	24	0,73-0,78	0,76-0,79
5	Бензол : этилацетат : DIPEA (9 : 1 : 0,1)	26	0,63-0,65	0,67-0,71
6	Бензол : DIPEA (3 : 0,05)	28	0,28 – 0,30	0,40 – 0,42

Установлено, что системы на основе спирта этилового, воды, спирта метилового, хлороформа и этилацетата оказались не пригодны для определения примеси *o*-толуидина, поскольку коэффициенты подвижности обоих детектируемых веществ довольно близки и имели значения в интервале 0,7-0,9. В случае систем на основе неполярных апротонных растворителей водный раствор аммиака не может быть использован, так как его добавление приводит к неоднородному элюированию образца. Поэтому в качестве основного элюента вместо раствора аммиака нами использован DIPEA. Как следует из результатов,

приведенных в таблице 18, оптимальной для разделения является система бензол : DIPEA (3 : 0,05), которую затем использовали применительно к решению поставленной задачи – возможности обнаружения и установления предельного содержания примеси *o*-толуидина в субстанции Мономекаина.

Для решения этой задачи определили чувствительность обнаружения *o*-толуидина на хроматограмме при проведении анализа в описанных выше условиях. На линию старта наносили по 0,01 мл спиртовых растворов, содержащих 1; 0,5; 0,2; 0,1 и 0,05 мкг *o*-толуидина. Предельно обнаруживаемое его количество на хроматограмме составило 0,1 мкг.

Для установления предельного содержания *o*-толуидина готовили модельную смесь состава: 0,1 г Мономекаина растворяли в 10 мл спирта этилового и к полученному раствору добавили 0,2 мл 0,1 % *o*-толуидина в спирте этиловом, что составило 0,2 % примеси по отношению к Мономекаину. На линию старта хроматографической пластинки наносили 0,01 мл 1 % раствора Мономекаина в спирте этиловом (СОВС), 0,01 мл раствора модельной смеси, в две другие точки 0,02 мл (0,2 мкг) и 0,01 мл (0,1 мкг) 0,01 % раствора *o*-толуидина в спирте этиловом и хроматографировали в приведенных выше условиях. На хроматограмме модельной смеси, приведенной на рис. 8, видно, что количество *o*-толуидина, равное 0,2 мкг в 100 мкг Мономекаина достоверно обнаруживается. Зона *o*-толуидина, соответствующая содержанию 0,1 мкг (предельно обнаруживаемому количеству *o*-толуидина), едва заметна.

Исходя из полученных результатов, разработана следующая методика испытания Мономекаина на содержание примеси *o*-толуидина.

*Испытуемый раствор:* 0,1 г субстанции Мономекаина растворяют в 10 мл спирта этилового 96 %.

*Раствор сравнения:* 1 мкл *o*-толуидина растворяют в 50 мл спирта этилового 96 %.

На линию старта пластинки Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ наносят 0,01 мл испытуемого раствора и 0,01 мл (0,2 мкг) раствора сравнения. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с подвижной фазой

состава: бензол – DIPEA (3:0,05) и хроматографируют восходящим способом. После достижения фронтом подвижной фазы линии финиша, пластинку извлекают из камеры, сушат на воздухе и просматривают в УФ свете при 254 нм.

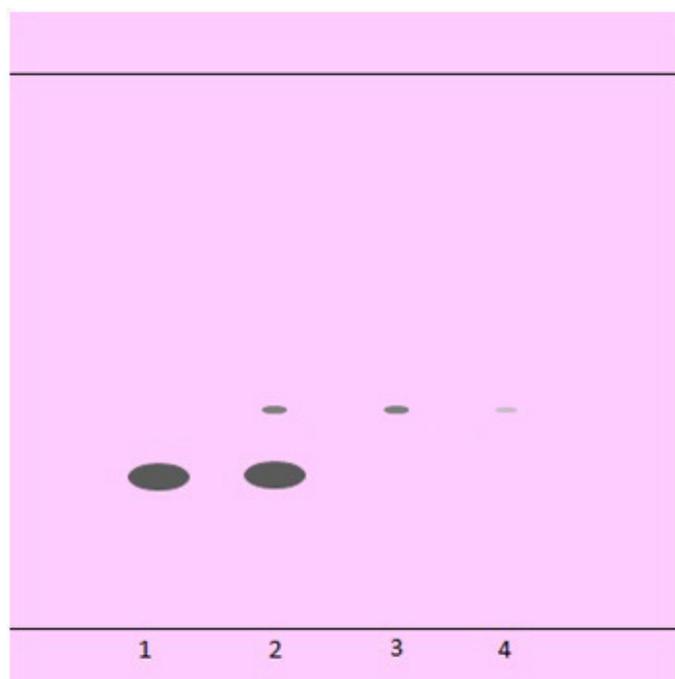


Рис. 8. Хроматограмма Мономекаина (1), *o*-толуидина 0,2 мкг (3), *o*-толуидина 0,1 мкг (4) и их модельной смеси (2)

Пятно посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора, находящееся на уровне пятна примеси *o*-толуидина, по совокупности величины и интенсивности окраски не должны превышать пятно на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %).

Результаты считаются достоверными, если на хроматограмме раствора сравнения четко видно пятно.

Проведенный анализ 5 серий Мономекаина показал, что примесь *o*-толуидина не обнаружена (Табл. 19). При этом для дополнительного контроля на линию старта наносили также 200 мкг испытуемого БАС.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что *o*-толуидин в анализируемых образцах отсутствует или его содержание менее 0,2 % (ниже предела, обнаруживаемого применяемым в методике способом обнаружения).

Методика введена нами в проект ФС на Мономекаин в раздел «Посторонние примеси».

Метод ТСХ может быть использован и для установления подлинности Мономекаина с применением СОВС или стандартного образца при его наличии.

Таблица 19

Результаты исследования субстанции Мономекаина  
на содержание примеси *o*-толуидина

(подвижная фаза бензол : DIPEA (3 : 0,05), детектирование УФ светом)

Серия	Нанесено Мономекаина, мкг	Значения $R_f$ (n = 3)		
		Мономекаина	<i>o</i> -толуидина	
			СОВС	в исследуемом образце
141209	100	0,30-0,31	0,40-0,42	Не обнаружен
	200	0,28-0,29	0,39-0,40	
290110	100	0,31-0,32	0,41-0,42	Не обнаружен
	200	0,30-0,31	0,40-0,42	
190210	100	0,30-0,31	0,40-0,41	Не обнаружен
	200	0,29-0,31	0,39-0,40	
250712	100	0,32-0,33	0,42-0,43	Не обнаружен
	200	0,31-0,32	0,42-0,43	
170314	100	0,29-0,31	0,40-0,41	Не обнаружен
	200	0,28-0,30	0,39-0,41	

#### 4.1.2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Для контроля примеси *o*-толуидина нами использован также метод ВЭЖХ, который в настоящее время является приоритетным в фармацевтическом анализе при испытании ЛС на посторонние примеси [8].

Подход к разработке методики анализа для Мономекаина и возможной посторонней примеси основывался на физико-химических свойствах анализируемых веществ. Мономекаин является полярным соединением, обладающим достаточно высокой гидрофильностью, что послужило выбором обращенно-фазного варианта ВЭЖХ, где в качестве элюента используются водно-органические смеси с буферными растворами.

Что касается *o*-толуидина, то он хорошо растворяется в спирте этиловом, но не растворим в воде, которая используется в качестве основной части подвижной фазы в обращено-фазной ВЭЖХ. Поэтому оптимальным вариантом является перевод *o*-толуидина в солевую форму с помощью кислоты.

Поскольку Мономекаин и примесь обладают различными физико-химическими свойствами, становилось очевидным применение градиентного варианта элюирования для проведения хроматографического анализа.

В качестве подвижной фазы исследованы системы, содержащие: ацетонитрил – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты; ацетонитрил – муравьиную кислоту; спирт метиловый – муравьиную кислоту.

По результатам испытаний системы, содержащие муравьиную кислоту, для анализа Мономекаина признаны непригодными из-за возможной реакции с нитрат-ионом. Поэтому для дальнейшего исследования принята система ацетонитрил – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты.

Для выполнения анализа подготовлены образцы растворов исходных веществ с концентрацией 1 мг/мл: Мономекаина – в 0,1 % водном растворе трифторуксусной кислоты, *o*-толуидина – в спирте этиловом 96 %.

Анализ проводили в следующих условиях:

- жидкостной хроматограф «Agilent-1100» с 4-х канальным градиентным насосом, автосамплером для ввода образцов и диодно-матричным детектором;
- колонка «Kromasil 100-5 C 18» производства фирмы ЕКА (Швеция) размером 250 × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм;
- подвижная фаза: А – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты; Б – ацетонитрил;
- режим элюирования: 0-3 мин 95 % фазы А – 5 % фазы Б; от 3-20 мин изменение состава фазы Б от 5 % до 60 %; 20-23 мин 40 % фазы А и 60 % фазы Б;
- скорость потока подвижной фазы 0,8 мл/мин;
- объем вводимой пробы 20 мкл;
- длина волны детектирования 240 нм, щель 8 нм.

В указанных условиях время удерживания Мономекаина составляет 14,668 мин, *o*-толуидина – 11,735 мин. (Рис. 9, 10, соответственно).

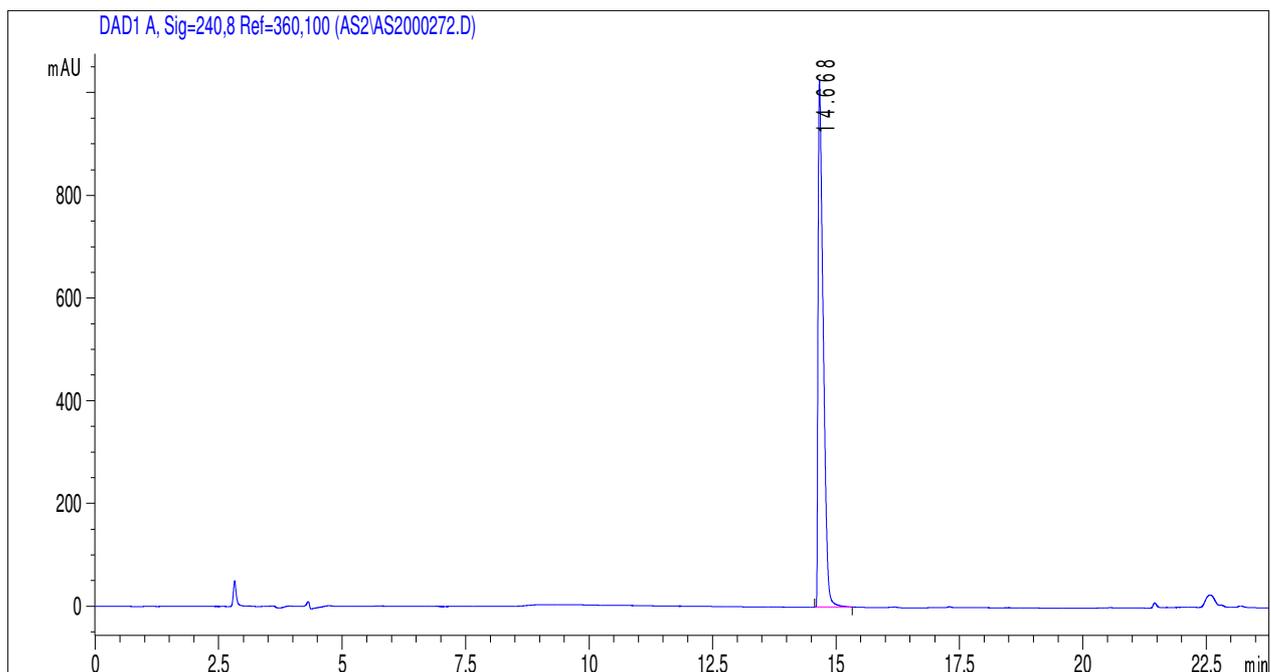


Рис. 9. Хроматограмма Мономекаина (время удерживания 14,67 мин)

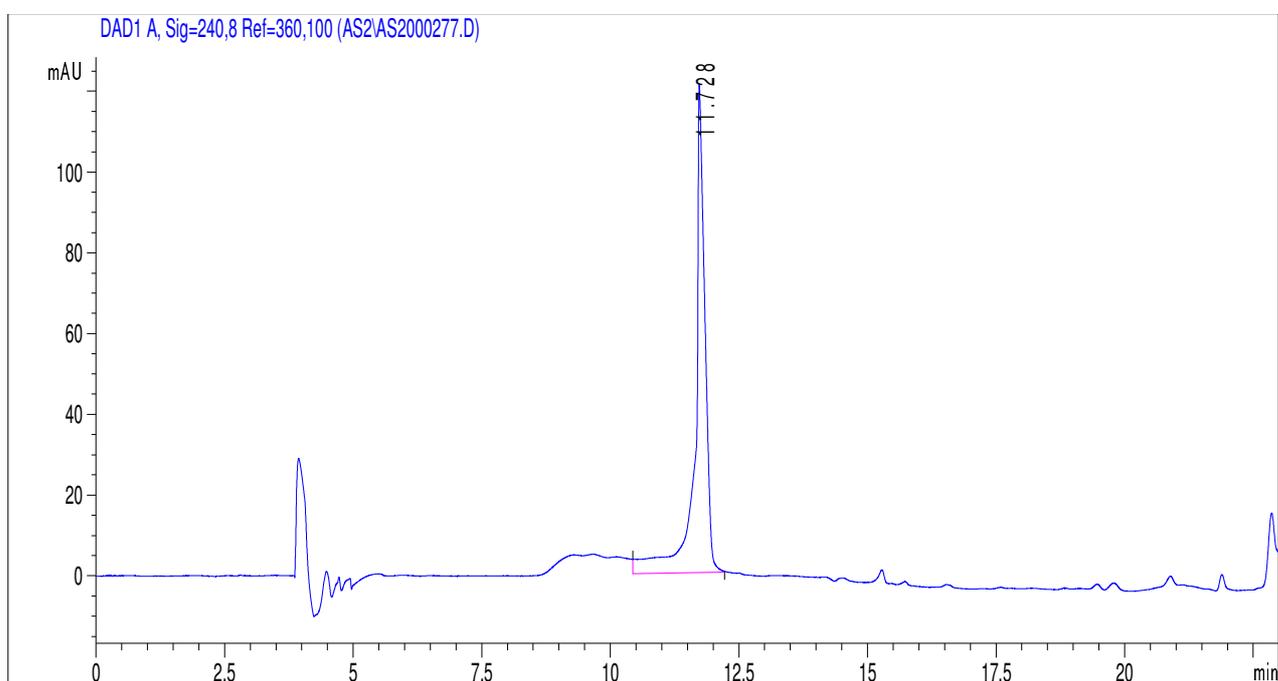


Рис. 10. Хроматограмма *o*-толуидина (время удерживания 11,73 мин)

Для дальнейших исследований подготовлена модельная смесь, состоящая из 10 мл раствора Мономекаина и 10 мкл раствора *o*-толуидина. Содержание примеси составляет 0,1 % по отношению к Мономекаину.

Анализ модельной смеси показал, что пик *o*-толуидина не виден вследствие малой интенсивности поглощения, поэтому его содержание в модельной смеси было увеличено до 0,2 %, а объем вводимой пробы также увеличили с 20 до 50 мкл. В этих условиях пик *o*-толуидина удалось идентифицировать (Рис. 11).

Для оценки пригодности хроматографической системы рассчитан коэффициент разделения компонентов между пиками компонентов в модельной смеси по формуле:

$$R = \frac{2 \times (t_2 - t_1)}{W_1 + W_2}, \text{ где}$$

$t_2, t_1$  – время удерживания соответствующего пика;

$W_1, W_2$  – ширина соответствующего пика у основания.

$$R = \frac{2 \cdot (14,752 - 11,959)}{0,0886 + 0,543} = 8,8$$

При  $R \geq 1,5$  компоненты разделены полностью, соответственно данная методика пригодна для определения примеси *o*-толуидина в образцах Мономекаина.

По вышеприведенной методике нами проведен анализ трех серий Мономекаина, полученные результаты приведены в табл. 20.

Таблица 20

Результаты анализа Мономекаина на содержание примеси *o*-толуидина

Серия	Площадь пика и время удерживания	
	Мономекаина	<i>o</i> -толуидина
170314	S = 54378, $t_{уд.}$ = 14,67 мин	Не обнаружен
	S = 56541, $t_{уд.}$ = 14,75 мин	
	S = 55998, $t_{уд.}$ = 14,61 мин	
010212	S = 54872, $t_{уд.}$ = 14,76 мин	Не обнаружен
	S = 56039, $t_{уд.}$ = 14,41 мин	
	S = 54988, $t_{уд.}$ = 14,58 мин	
141209	S = 54526, $t_{уд.}$ = 14,80 мин	Не обнаружен
	S = 55392, $t_{уд.}$ = 14,78 мин	
	S = 55678, $t_{уд.}$ = 14,79 мин	

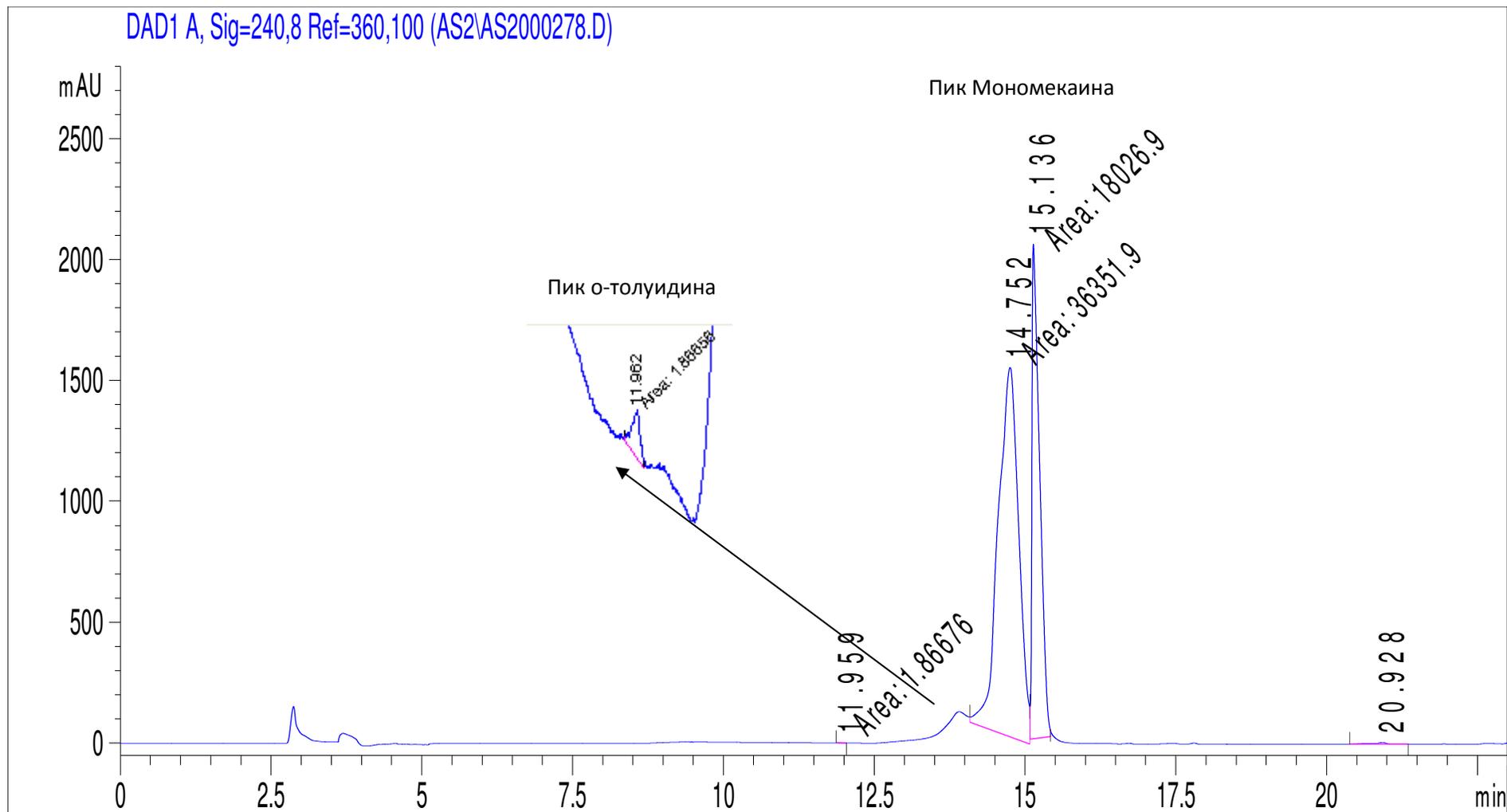


Рис. 11. Хроматограмма модельной смеси раствора Мономекаина и о-толуидина

Результаты анализа позволяют сделать заключение о том, что *o*-толуидин отсутствует в анализируемых образцах или его содержание менее 0,2 %. Разработанная методика определения посторонней примеси в Мономекаине методом ВЭЖХ введена нами в проект ФС на субстанцию исследуемого БАС.

Методика:

*Подвижная фаза (ПФ):* А – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты; Б – ацетонитрил.

*Испытуемый раствор:* 0,01 г субстанции растворяют в 10 мл ПФ А. Концентрация полученного раствора 1 мг/мл.

*Раствор сравнения 1:* 0,01 г *o*-толуидина растворяют в 10 мл этанола. 200 мкл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят раствор до метки 0,1 % водным раствором трифторуксусной кислоты. Концентрация полученного раствора 2 мкг/мл.

*Условия хроматографирования:*

- Колонка «Kromasil 100-5 C 18» размером 250 × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм;
- Режим элюирования: 0-3 мин 95 % подвижной фазы А – 5 % подвижной фазы Б; от 3-20 мин изменение состава подвижной фазы от 5 % до 60 % Б; 20-23 мин 40 % подвижной фазы А и 60 % подвижной фазы Б;
- Скорость потока подвижной фазы: 0,8 мл/мин;
- Объем вводимой пробы: 50 мкл;
- Детектор: спектрофотометрический, 240 нм.

Последовательно хроматографируют раствор сравнения 1 и испытуемый раствор.

Площадь пика любой посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора должна быть не более площади пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %), суммарная площадь всех пиков посторонних примесей должна быть не более 0,5 %.

## 4.2. Определение содержания остаточных растворителей методом ГХ

Согласно ОФС 42-0057-07 «Остаточные органические растворители» [73], они разделены на 3 класса, исходя из степени их возможного риска для здоровья человека. Для каждого растворителя нормировано его предельно допустимое содержание в лекарственных средствах.

В процессе синтеза Мономекаина используют бензол и ацетон. В среде ацетона осуществляют первую стадию синтеза Мономекаина – конденсацию *o*-толуидина с хлорацетилхлоридом, которая сопровождается образованием 2-метилхлорацетанилида. На следующей стадии его растворяют в бензоле, вводят в реакцию с диэтиламином, что приводит к образованию Мономекаина – основания, из которого получают азотнокислую соль. В качестве растворителя для перекристаллизации соли используют ацетон.

Несмотря на тщательную очистку, в конечном продукте может находиться минимальное количество указанных растворителей. В соответствии с классификацией, приведенной в ОФС, бензол относится к 1 классу токсичности (высокотоксичные растворители), ацетон – к 3 классу (нетоксичные растворители) [73].

Разработку методик установления предельного содержания остаточных органических растворителей, использующихся при получении исследуемого БАС, проводили на 8-ми сериях Мономекаина.

Метод исследования – газовая хроматография. Прибор – газовый хроматограф CG-2010 (Shimadzu, Япония), оборудованный пламенно-ионизационным детектором.

*Условия хроматографирования:* капиллярная колонка длиной 30 м, диаметром 0,25 мм; толщина пленки неподвижной фазы на колонке 0,25 мкм; газ-носитель – азот, соотношение 1:30; скорость газового потока через колонку 1,0 мл/мин; температура инжектора 250 °С, детектора – 300 °С; температура колонки (изотерма) 40 °С (выдержано 5 мин), программирование температуры со

скоростью 10 °С/мин до 280 °С; время анализа 6 мин; на поддув детектора расход водорода 40 мл/мин, воздуха 400 мл/мин, азота 30 мл/мин.

Анализ проводили по методике: точную навеску БАС (около 0,1 г) растворяли в 2 мл воды в вiale вместимостью 4 мл, выдерживали 40 мин при 80 °С. Затем пробу, взятую из газовой фазы, с помощью шприца Луер вводили в хроматографическую колонку и хроматографировали в указанных выше условиях. По полученным хроматограммам проводили расчет количественного содержания остаточных органических растворителей по методу абсолютной градуировки с использованием водных растворов бензола и ацетона.

В результате проведенных исследований установлено, что содержание растворителей (бензола и ацетона) не превышает предельно допустимые нормы, регламентированные ОФС 42-0057-07 (Табл. 21). Требования ГФ XII по содержанию остаточных органических растворителей: бензола не более 2 ppm, ацетона не более 0,5 %. На рис. 12 приведена хроматограмма, полученная при исследовании на содержание остаточных растворителей для образца Мономекаина серии 010212. Как следует из полученных результатов, время удерживания ацетона – 2,973 мин, бензола – 4,675 мин.

Таблица 21

Результаты анализа Мономекаина на содержание бензола и ацетона (n = 3)

№ п/п	Исследуемые серии мономекаина	Содержание бензола и ацетона	
		Бензол, ppm	Ацетон, %
1	141209	-	0,0199
2	290110	0,3	0,0910
3	190210	-	0,0550
4	161211	0,04	0,0958
5	010212	0,63	0,1165
6	130612	0,52	0,0928
7	230712	0,14	0,3993
8	250712	1,38	0,1275

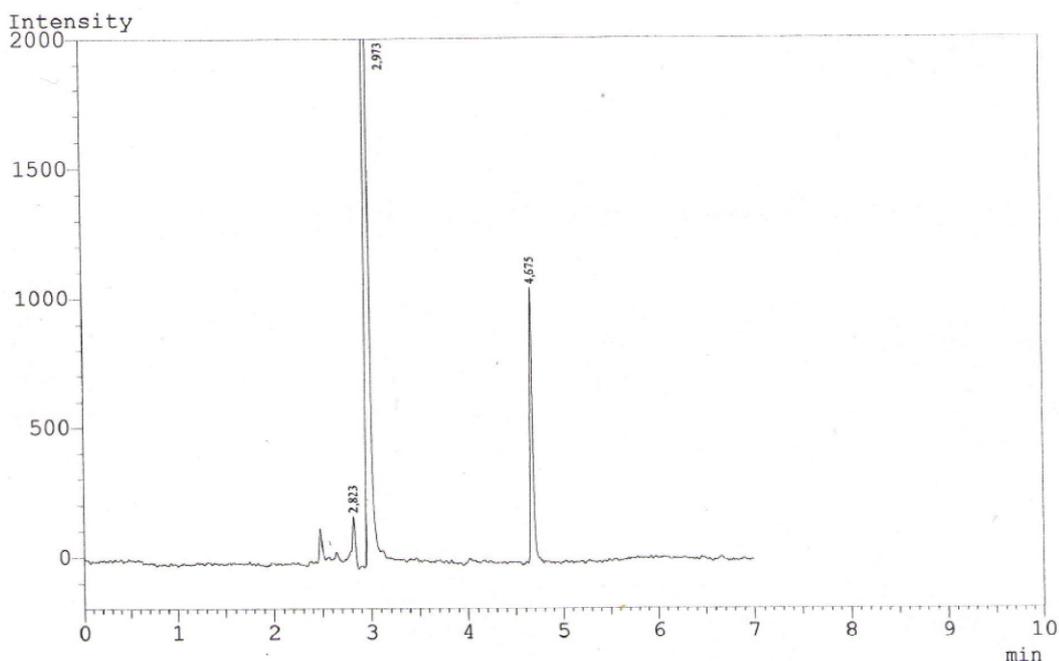


Рис. 12 . Хроматограмма паровоздушной фазы водного раствора Мономекаина серии 010212.

Вышеизложенная методика введена нами в проект ФС для установления предельного содержания остаточных органических растворителей в процессе контроля качества Мономекаина.

#### Выводы по главе 4

1. Выбрана эффективная система растворителей для разделения Мономекаина и исходного продукта его синтеза – *o*-толуидина методом ТСХ. Разработана методика испытания субстанции на содержание примеси *o*-толуидина, которая введена в проект ФС. Регламентировано предельное содержание *o*-толуидина – не более 0,2 %.
2. Установлены оптимальные условия определения Мономекаина и *o*-толуидина методом ВЭЖХ: объем вводимой пробы, состав подвижной фазы, режим элюирования, скорость потока подвижной фазы, способ детектирования и концентрация раствора исследуемого вещества. Разработана методика для контроля содержания исходного продукта

синтеза Мономекаина *o*-толуидина, которая введена в проект ФС. Нормированное содержание *o*-толуидина в субстанции – не более 0,2 %.

3. Установлены оптимальные условия и разработана методика определения остаточных органических растворителей в субстанции Мономекаина – бензола и ацетона методом ГХ. Проведенный анализ восьми серий исследуемого соединения показал, что их содержание не превышает пределы, установленные ГФ XII (бензол не более 2 ppm, ацетон не более 0,5 %). Методика введена в проект ФС на субстанцию Мономекаина.

## **ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОНОМЕКАИНА**

Титриметрические методы широко применяются в фармацевтическом анализе. Они позволяют использовать разнообразные химические реакции при проведении количественного определения с учетом свойств исследуемого вещества. Титриметрическое определение выполняется достаточно быстро, с большой степенью точности, не нуждается в сложном оснащении и может использоваться не только в исследовательских лабораториях, но и в производственных аптеках.

Изучение ФС на субстанции ЛС показало, что титриметрические методы являются преобладающими при оценке их количественного содержания. Прежде чем методика будет введена в ФС, необходимо предварительное исследование для установления оптимальных условий ее выполнения с целью последующего получения достоверных, правильных и воспроизводимых результатов.

Объект нашего исследования – соль органического основания и неорганической кислоты. Для подобных ЛС при количественном определении используется, как правило, метод ацидиметрии в протогенных растворителях. При разработке методики количественного определения нового БАС следует установить значение  $pK_a$ , которое характеризует его основные свойства, установить природу и состав протогенных растворителей, способ индикации.

### **5.1. Определение константы ионизации**

Константа ионизации является одним из важных физико-химических параметров вещества, характеризующих его кислотно-основные свойства [78]. Константу ионизации Мономекаина определяли, руководствуясь рекомендациями, изложенными в монографии [2] с использованием титриметрического метода. Изменение рН в процессе титрования устанавливали методом потенциометрии.

*Методика:* 0,1416 г исследуемого БАС (точная навеска) растворяли в 50 мл воды очищенной (0,01 М концентрация). К полученному раствору десятью порциями, каждая из которых равна одной десятой эквивалента, добавляли титрант – 0,1 М раствор калия гидроксида, перемешивали и после каждого добавления, как только установится равновесие, измеряли значение рН. Экспериментальное определение значения  $pK_a$  провели на трех сериях БАС. Полученные результаты представлены в табл. 22, 23, 24.

Таблица 22

Результаты определения константы ионизации Мономекаина (серия 141209)

Объем титранта, мл	Значение рН раствора (n=3)	Стехиометрические концентрации		$\frac{BH^+}{B^-}$	lg чисел из столбца 5	$pK_a$ (сумма чисел из столбцов 2 и 6) (без поправок)
		$BH^+$	$B^-$			
1	2	3	4	5	6	7
0	5,54	0,010	0	-	-	-
0,5	6,45	0,009	0,001	9/1	+0,95	7,40
1,0	6,83	0,008	0,002	8/2	+0,60	7,43
1,5	7,16	0,007	0,003	7/3	+0,37	7,53
2	7,42	0,006	0,004	6/4	+0,18	7,60
2,5	7,65	0,005	0,005	5/5	0,00	7,65
3	7,91	0,004	0,006	4/6	-0,18	7,73
3,5	8,23	0,003	0,007	3/7	-0,37	7,86
4	8,48	0,002	0,008	2/8	-0,60	7,88
4,5	8,80	0,001	0,009	1/9	-0,95	7,85
5	9,04	0	0,010	-	-	-

Среднее значение  $pK_a = 7,66 \pm 0,15$

Таблица 23

Результаты определения константы ионизации Мономекаина (серия 290110)

Объем титранта, мл	Значение pH раствора (n = 3)	Стехиометрические концентрации		ВН <sup>+</sup> В <sup>-</sup>	lg чисел из столбца 5	pK <sub>a</sub> (сумма чисел из столбцов 2 и 6) (без поправок)
		ВН <sup>+</sup>	В <sup>-</sup>			
1	2	3	4	5	6	7
0	5,36	0,010	0	-	-	-
0,5	6,55	0,009	0,001	9/1	+0,95	7,50
1,0	6,89	0,008	0,002	8/2	+0,60	7,49
1,5	7,08	0,007	0,003	7/3	+0,37	7,45
2	7,32	0,006	0,004	6/4	+0,18	7,50
2,5	7,46	0,005	0,005	5/5	0,00	7,46
3	7,54	0,004	0,006	4/6	-0,18	7,36
3,5	7,86	0,003	0,007	3/7	-0,37	7,49
4	8,03	0,002	0,008	2/8	-0,60	7,43
4,5	8,22	0,001	0,009	1/9	-0,95	7,27
5	8,53	0	0,010	-	-	-

Среднее значение pK<sub>a</sub> = 7,44 ± 0,20

Таблица 24

Результаты определения константы ионизации Мономекаина (серия 230712)

Объем титранта, мл	Значение pH раствора (n = 3)	Стехиометрические концентрации		ВН <sup>+</sup> В <sup>-</sup>	lg чисел из столбца 5	pK <sub>a</sub> (сумма чисел из столбцов 2 и 6) (без поправок)
		ВН <sup>+</sup>	В <sup>-</sup>			
1	2	3	4	5	6	7
0	5,90	0,010	0	-	-	-
0,5	6,45	0,009	0,001	9/1	+0,95	7,40
1,0	6,83	0,008	0,002	8/2	+0,60	7,43
1,5	7,05	0,007	0,003	7/3	+0,37	7,42
2	7,28	0,006	0,004	6/4	+0,18	7,46
2,5	7,42	0,005	0,005	5/5	0,00	7,42
3	7,60	0,004	0,006	4/6	-0,18	7,42
3,5	7,85	0,003	0,007	3/7	-0,37	7,48
4	8,08	0,002	0,008	2/8	-0,60	7,48
4,5	8,62	0,001	0,009	1/9	-0,95	7,67
5	9,10	0	0,010	-	-	-

Среднее значение pK<sub>a</sub> = 7,46 ± 0,18

На основании рассчитанных по результатам титрования значений  $pK_a$  можно сделать вывод о достаточно слабых основных свойствах исследуемого БАС. Исходя из этого, целесообразной является разработка методики его количественного определения на основе метода неводной ацидиметрии.

## **5.2. Выбор условий ацидиметрического титрования в среде протогенного растворителя**

Фармакопейным методом количественного определения для органических ЛС, обладающих слабыми основными свойствами, является метод ацидиметрии в среде протогенных растворителей [23].

Анализ методик количественного определения солей органических азотсодержащих оснований, приведенных в действующих фармакопейных статьях, показал, что наиболее распространенными протогенными растворителями являются уксусная кислота ледяная, уксусный ангидрид, а также их смеси [23]. Описано использование также муравьиной кислоты, которая нами была исключена из исследования ввиду ее восстановительных свойств и возможности взаимодействия с нитрат-ионом. Исходя из этого, мы апробировали для разработки методики растворители, приведенные в табл. 25.

Таблица 25

Растворители, использованные для титрования Мономекаина в  
предварительных опытах

№ п/п	Протогенные растворители	Соотношение растворителей, мл
1	Уксусная кислота ледяная ( $CH_3COOH$ ) / Уксусный ангидрид ( $(CH_3CO)_2O$ )	5:10
2	Уксусная кислота ледяная ( $CH_3COOH$ ) / Уксусный ангидрид ( $(CH_3CO)_2O$ )	10:10
3	Уксусная кислота ледяная ( $CH_3COOH$ ) / Уксусный ангидрид ( $(CH_3CO)_2O$ )	10:5
4	Уксусная кислота ледяная ( $CH_3COOH$ )	10
5	Уксусный ангидрид ( $(CH_3CO)_2O$ )	10

Критериями выбора оптимального растворителя для количественного определения служили следующие:

- наличие четкого скачка на кривой титрования;
- количественное содержание БАС, рассчитанное по результатам титрования.

Все исследования, касающиеся выбора оптимальных условий ацидиметрического титрования, проводили на серии Мономекаина 230712, навеску брали с таким расчетом, чтобы на титрование расходовалось 5,0–5,5 мл титранта – 0,1 М раствора хлорной кислоты.

*Методика* исследования. Около 0,15 г (точная навеска) Мономекаина растворяли в каждом из указанных в табл. 25 протогенном растворителе (или их смесях) и титровали 0,1 М раствором хлорной кислоты, добавляя титрант по 0,1 мл, после перемешивания раствора фиксировали значение  $E, mV$ . Вблизи точки эквивалентности добавление титранта проводили по 0,01 мл. По результатам титрования получали кривую титрования, на которой отмечали скачок потенциала (зависимость  $E, mV$  от  $V, мл$ ) (Рис. 12) и дифференциальную кривую (зависимость  $\Delta E/\Delta V$ ) (Рис. 13).

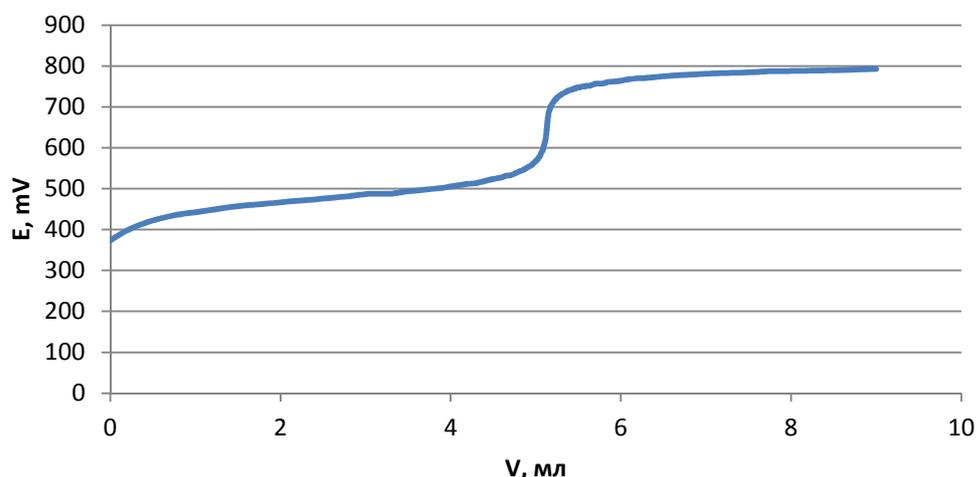


Рис. 12. Кривая титрования Мономекаина 0,1 М раствором хлорной кислоты в смеси протогенных растворителей уксусная кислота ледяная – уксусный ангидрид 5:10

$$a = 0,1500 \text{ г}; V = 5,13 \text{ мл}; C = 99,65 \%$$

Как показали полученные результаты, во всех растворителях наблюдается наличие четкой, симметричной кривой титрования, а дифференциальная кривая свидетельствует о достоверном фиксировании точки эквивалентности. Однако замечено, что растворимость исследуемой субстанции ухудшается при использовании для титрования только уксусного ангидрида.

Воспроизводимость полученных результатов, наличие четкого скачка на кривой титрования позволили нам рекомендовать для дальнейших исследований в качестве прототипного растворителя смесь уксусная кислота ледяная – уксусный ангидрид 5:10.

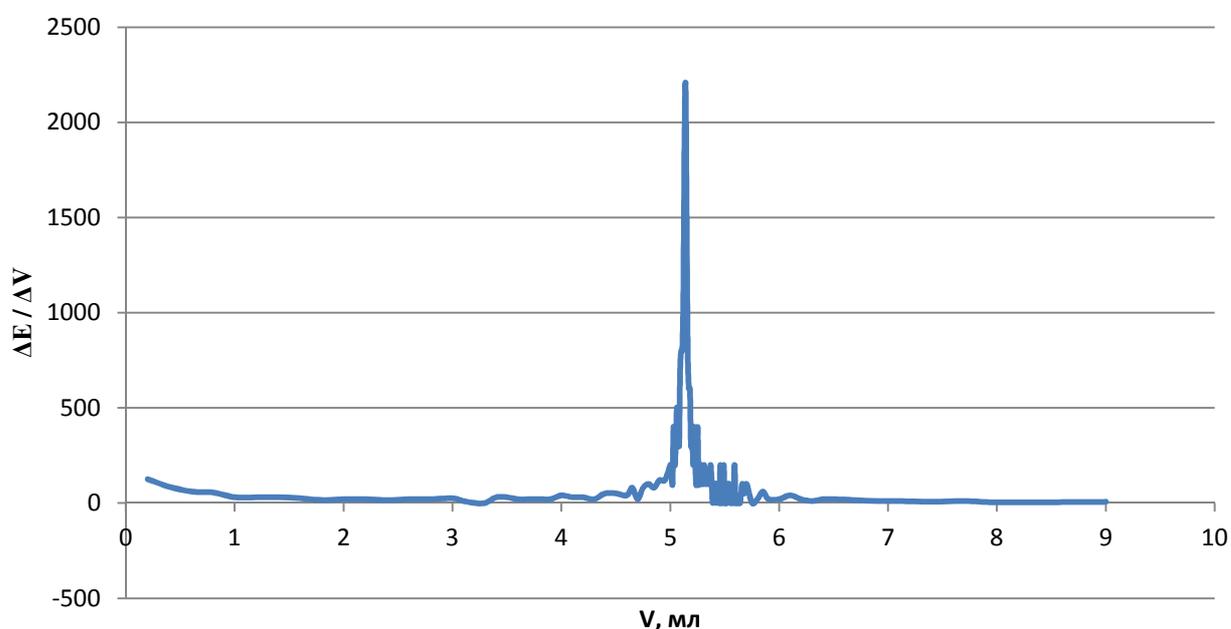


Рис. 13. Дифференциальная кривая титрования Мономекаина в смеси растворителей уксусная кислота ледяная – уксусный ангидрид 5:10

### 5.3. Способ индикации при ацидиметрическом титровании

Для визуального установления точки эквивалентности при ацидиметрическом титровании Мономекаина проводили испытания с индикаторами, применяемыми для кислотного-основного титрования в неводных средах [23]. Полученные результаты приведены в табл. 26.

Результаты ацидиметрического титрования Мономекаина в неводной среде с применением кислотно-основных индикаторов

Индикатор	Навеска БАС, г	Объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Переход окраски в анализируемом растворе	Переход окраски в контрольном опыте
Кристаллический фиолетовый	0,1512	5,11	95,06	Обесцвечивание раствора	От фиолетовой до голубой
	0,1488	5,07	95,83		
	0,1503	5,01	93,88		
Тропеолин 00	0,1428	5,94	116,99	От желтой до красной и снова к желтой	От желтой до фиолетовой
	0,1487	6,17	116,70		
	0,1513	6,29	116,93		
Нейтральный красный	0,1527	6,66	122,67	От красной до оранжевой	От красной до синей
	0,1499	6,49	121,77		
	0,1501	6,51	121,99		
Малахитовый зеленый	0,1506	5,52	103,30	От зеленой до желтой. При стоянии зеленеет	От зеленой до желто-оранжевой
	0,1521	5,63	104,11		
	0,1511	5,58	103,87		

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что ни один из исследованных индикаторов не дает при титровании Мономекаина перехода окраски, обозначенного в контрольном опыте, результаты невоспроизводимы, что, очевидно, связано с влиянием нитрат-иона. Можно предположить, что азотная кислота вступает с индикаторами в побочную реакцию, что приводит к изменению их структуры, имеющую иную окраску, чем предусмотренную результатами контрольного опыта. Исходя из этого, приходим к выводу, что в случае титрования Мономекаина оптимальным является фиксирование точки эквивалентности потенциметрически.

На основании полученных результатов нами предложена следующая методика ацидиметрического титрования Мономекаина в неводной среде.

Около 0,15 г (точная навеска) исследуемого вещества, предварительно высушенного до постоянной массы, растворяют в 5 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 10 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. Точку эквивалентности определяют потенциометрически. 1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 28,33 мг  $C_{13}H_{20}ON_2 \cdot HNO_3$ .

Параллельно проводят контрольный опыт.

### 5.3.1. Валидация методики

Согласно рекомендациям Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека (ICH), любая аналитическая методика для контроля качества лекарственных средств должна быть подвергнута валидации [101].

Все методики и испытания, включенные в фармакопеи сторон – участников ICH (Европейская Фармакопея, Фармакопея США и Фармакопея Японии), являются валидированными, и требуют только проведения верификации (проверки) [99].

Специфическими характеристиками валидации методик определены: специфичность, предел обнаружения или чувствительность, предел количественного определения, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность, устойчивость [48].

При валидации методик количественного определения обязательным является соответствие методики следующим показателям:

– предел количественного определения, который обязателен при испытаниях количественного содержания примесей, содержащиеся в ЛП в очень низких концентрациях. В зависимости от метода количественного определения титриметрического или инструментального, существуют различные виды определения предела: визуальный, вычисления или экстраполяция и др.;

– аналитическая область или диапазон методики, определяется высшей и низшей концентрациями, в пределах которых возможно определять

анализируемое вещество с приемлемой точностью, правильностью и линейностью, т.е. способностью результатов испытания в данном диапазоне находиться в линейной зависимости от концентрации анализируемого вещества [99];

– одним из показателей правильности является точность определения, т.е. результаты испытаний, проведенных по валидируемой методике, должны быть максимально близки к предполагаемому истинному значению;

– прецизионность определяется как степень близости или величина отклонения независимых результатов индивидуальных испытаний, полученных в конкретных установленных условиях. Показателями прецизионности являются повторяемость (сходимость) и воспроизводимость результатов. Повторяемость результатов проверяется при проведении абсолютно идентичных испытаний в небольшой промежуток времени. Воспроизводимость методики изучается при межлабораторных исследованиях.

Основной проблемой валидационных характеристик остается отсутствие единой терминологии. В различных литературных источниках определение параметров валидации может носить довольно существенные различия [23, 48, 99, 101].

Кроме того, количество литературных источников, содержащих информацию о валидации аналитических методик фармацевтических препаратов, невелико. Опубликованные статьи по данной теме в основном касаются валидации методик количественного определения ЛС методами хроматографии, в меньшей степени спектральными методами [48, 102, 110].

Для оценки пригодности методики количественного определения Мономекаина методом неводного титрования проведена валидация по показателям: линейность результатов, сходимость (повторяемость) и правильность (точность) в аналитической области методики согласно требованиям ОФС 42-0113-09 [86].

*Линейность результатов*

Для установления линейной зависимости осуществляли статистическую обработку выборки, полученной в результате количественного определения навесок на семи уровнях концентрации (в диапазоне 70-130 % от количества исследуемого вещества, принятого за 100 % – 0,15 г) (Табл. 27).

Таблица 27

Линейность результатов количественного определения Мономекаина

№ п/п	Уровень навески исследуемого БАС, %	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики
1	70	0,1053	3,55	99,94	$\bar{x} = 0,1501$ $\bar{y} = 5,08$ $b = 34,63$ $\alpha = - 0,1139$ $r = 0,9998$ $S_o^2 = 7,89 \cdot 10^{-4}$ $S_b = 0,00059$ $S_a = 0,047$ $\Delta b = 0,79$ $\Delta \alpha = 0,12$
		0,1052	3,55	100,04	
		0,1049	3,53	99,76	
2	80	0,1198	4,04	99,97	
		0,1200	4,05	100,05	
		0,1201	4,05	99,97	
3	90	0,1349	4,55	99,99	
		0,1350	4,56	100,13	
		0,1349	4,55	99,99	
4	100	0,1501	5,06	99,93	
		0,1502	5,06	99,87	
		0,1501	5,06	99,93	
5	110	0,1652	5,58	100,13	
		0,1652	5,57	99,95	
		0,1651	5,56	99,83	
6	120	0,1801	6,15	100,01	
		0,1801	6,15	100,01	
		0,1799	6,13	99,80	
7	130	0,1951	6,66	99,98	
		0,1951	6,66	99,98	
		0,1950	6,65	99,88	

Уравнение линейной регрессии:  $y = bx + a$  подтверждает значение коэффициента линейной корреляции ( $r = 0,9998$ ) (Рис. 15).

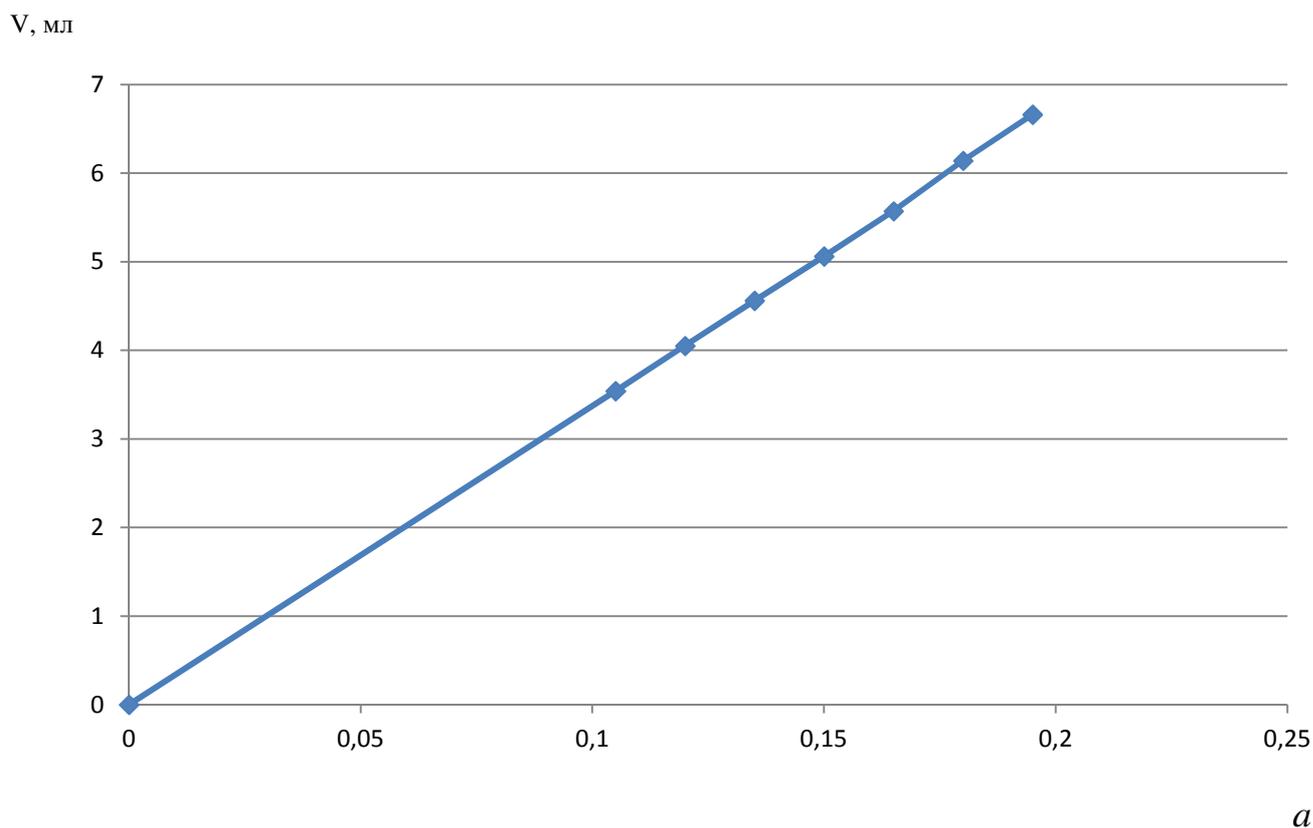


Рис. 15. Линейная регрессия эквивалентного объема титранта от количества исследуемого вещества

Из полученных результатов следует, что в пределах исследованного интервала навесок Мономекаина методика отвечает установленным требованиям.

#### *Сходимость результатов*

Оценку сходимости (повторяемости) результатов проводили путем статистической обработки выборок, полученных в ходе количественного определения исследуемого БАС на трех уровнях концентраций в пределах рекомендуемой аналитической области методики (80, 100, 120 % от количества вещества 0,15 г, принятого за 100 %) (Табл. 28).

Как следует из представленных данных, относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 0,042 %, что свидетельствует об удовлетворительной сходимости результатов титрования на всех изученных уровнях содержания анализируемого вещества в пробе и соответствии методики

критерию приемлемости (не более 1,3 %) при содержании вещества в исследуемом объекте, близком к 100 %.

Таблица 28

Оценка сходимости результатов титрования Мономекаина (серия БАС 250712)

Уровень содержания исследуемого БАС, %	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики (P = 95 %; f = 6)
80	0,1198	4,04	99,97	$R_{cp} = 99,99$ $SD = 0,042$ $\Delta R = 0,08$ $RSD = 0,042 \%$
	0,1200	4,05	100,04	
	0,1201	4,05	99,96	
	0,1200	4,05	100,04	
	0,1200	4,05	100,04	
	0,1201	4,05	99,96	
	0,1201	4,05	99,96	
100	0,1501	5,06	99,83	$R_{cp} = 99,87$ $SD = 0,035$ $\Delta R = 0,07$ $RSD = 0,035 \%$
	0,1502	5,06	99,87	
	0,1501	5,06	99,83	
	0,1500	5,06	99,90	
	0,1500	5,06	99,90	
	0,1500	5,06	99,90	
	0,1501	5,06	99,83	
120	0,1801	6,15	100,01	$R_{cp} = 99,97$ $SD = 0,039$ $\Delta R = 0,06$ $RSD = 0,039 \%$
	0,1801	6,15	100,01	
	0,1799	6,13	99,96	
	0,1800	6,14	99,95	
	0,1800	6,14	99,90	
	0,1800	6,14	99,99	
	0,1802	6,15	99,95	

### *Правильность методики*

Правильность методики оценивали по результатам титрования трех серийных образцов Мономекаина путем статистической обработки результатов титрования (Табл. 29). Как следует из полученных результатов, найденное содержание Мономекаина близко к 100 %, а величины относительных погрешностей невелики.

Результаты количественного определения серийных образцов Мономекаина

Серия исследуемого БАС, %	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики (P = 95 %; f = 6)
080813	0,1499	5,27	99,84	$\bar{x} = 99,88$ $S = 0,090$ $S_{\bar{x}} = 0,034$ $\Delta\bar{x} = 0,084$ $\varepsilon = 0,22 \%$ $\bar{\varepsilon} = 0,084 \%$
	0,1500	5,28	99,96	
	0,1500	5,28	99,96	
	0,1498	5,26	99,72	
	0,1500	5,28	99,96	
	0,1501	5,28	99,89	
	0,1502	5,28	99,83	
080114	0,1498	5,27	99,81	$\bar{x} = 99,88$ $S = 0,075$ $S_{\bar{x}} = 0,029$ $\Delta\bar{x} = 0,070$ $\varepsilon = 0,18 \%$ $\bar{\varepsilon} = 0,070 \%$
	0,1501	5,29	99,98	
	0,1501	5,29	99,98	
	0,1500	5,28	99,86	
	0,1500	5,28	99,86	
	0,1501	5,28	99,79	
	0,1500	5,28	99,86	
170314	0,1500	5,29	99,74	$\bar{x} = 99,87$ $S = 0,083$ $S_{\bar{x}} = 0,031$ $\Delta\bar{x} = 0,070$ $\varepsilon = 0,20 \%$ $\bar{\varepsilon} = 0,077 \%$
	0,1502	5,31	99,98	
	0,1501	5,30	99,86	
	0,1500	5,30	99,93	
	0,1500	5,30	99,93	
	0,1498	5,29	99,87	
	0,1502	5,30	99,80	

Валидационная оценка разработанной методики показывает, что она соответствует критериям приемлемости для аналитической цели, исходя из чего, она включена нами в проект ФС для количественного определения Мономекаина.

Методика апробирована с положительным заключением в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» в г. Екатеринбурге (Приложение 4).

## 5.4. Экстракционное титрование

### *Определение оптимальных условий двухфазного титрования*

Основными факторами, влияющими на экстракцию вещества в процессе титрования натрия лаурилсульфатом (ЛСН), являются значение рН водной фазы, соотношение водной и органической фаз, выбор индикатора. Для определения оптимальных условий титрования, связанных с данными факторами, исследования проводили при изменении одного из параметров и постоянстве всех остальных. Методические подходы к исследованию влияния вышеуказанных факторов при разработке методик экстракционного титрования ЛСН описаны в [61, 130] и взяты нами за основу.

### *Установление оптимальной кислотности водной фазы*

Для установления оптимальной кислотности водной фазы применяли растворы хлористоводородной кислоты с концентрацией 0,5 М, 0,25 М, 0,1 М, 0,05 М, 0,02 М, 0,01 М.

*Методика исследования:* около 0,03 г БАС (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 °С, помещали в коническую колбу на 100 мл, растворяли в 5 мл каждого из приготовленных растворов хлористоводородной кислоты, добавляли 10 мл хлороформа, 2 капли индикатора – диметилового желтого (ДМЖ) и титровали при энергичном встряхивании 0,01 М раствором ЛСН до изменения желтой окраски хлороформного слоя до розовой. 1 мл 0,01 М раствора ЛСН соответствует 2,833 мг  $C_{13}H_{20}N_2O \cdot HNO_3$ .

Параллельно проводили контрольный опыт. В каждом случае рассчитывали процентное содержание вещества, которое служило критерием оценки оптимального значения кислотности среды (Табл. 30).

## Определение оптимального значения рН среды титрования

С кислоты, моль/л	Навеска БАС, г	Объем ЛСН, мл	Содержание БАС, %		рН водной фазы до титрования	рН водной фазы после титрования
			х	$\bar{x}$		
0,5	0,0297	9,80	89,52	89,92	0,65	0,73
	0,0294	9,80	90,43			
	0,0287	9,50	89,80			
0,25	0,0264	8,60	92,29	92,48	1,02	1,27
	0,0278	9,10	92,73			
	0,0282	9,20	92,42			
0,1	0,0298	10,30	97,92	97,53	1,08	1,57
	0,0288	10,30	97,02			
	0,0300	10,80	97,66			
0,05	0,0319	11,60	98,65	98,76	1,41	2,02
	0,0317	11,50	98,42			
	0,0309	11,30	99,21			
0,02	0,0305	11,20	99,62	99,24	2,18	2,29
	0,0301	11,00	99,14			
	0,0307	11,20	98,97			
0,01	0,0304	11,20	99,95	99,74	2,43	2,60
	0,0299	11,00	99,80			
	0,0300	11,00	99,47			

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что оптимальное значение рН среды для титрования Мономекаина должно находиться в интервале 2,18-2,60, что соответствует исходной концентрации хлористоводородной кислоты 0,01-0,02 моль/л, исходя из чего, в дальнейших исследованиях нами использован 0,02 М раствор.

*Установление оптимального соотношения фаз*

*Методика исследования:* около 0,03 г БАС (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 °С, помещали в коническую колбу на 100 мл, растворяли в 5 мл 0,02 М раствора

хлористоводородной кислоты, добавляли 2,5 мл (2:1), 5 мл (1:1), 10 мл (1:2) хлороформа, 2 капли индикатора – диметилового желтого и титровали при энергичном встряхивании 0,01 М раствором ЛСН до изменения желтой окраски хлороформного слоя до розовой. Параллельно проводили контрольный опыт. В каждом случае рассчитывали процентное содержание вещества, которое служило критерием оценки оптимального значения кислотности среды (Табл. 31).

Таблица 31

Результаты титриметрического определения Мономекаина при различном соотношении фаз

Соотношение водной и органической фаз	Навеска БАС, г	Объем ЛСН, мл	Содержание БАС, %	
			x	$\bar{x}$
2:1	0,0305	11,10	98,73	99,02
	0,0312	11,40	99,12	
	0,0309	11,30	99,21	
1:1	0,0302	11,10	99,71	99,87
	0,0309	11,40	100,09	
	0,0299	11,00	99,80	
1:2	0,0297	10,90	99,56	99,48
	0,0301	11,00	99,14	
	0,0291	10,70	99,75	

Полученные данные позволяют сделать вывод о возможности использования в дальнейших исследованиях соотношения водной и органической фазы 1:1 или 1:2.

#### *Выбор индикатора*

Основное требование к индикатору при титровании – это четкий переход его окраски в точке эквивалентности.

Чаще всего при экстракционном титровании применяют индикатор диметиловый желтый, который меняет свою окраску в точке эквивалентности от

желтой до розовой. Кроме того применяют и смешанный индикатор, представляющий собой смесь растворов диметилового желтого и метиленового синего (МС) в различных соотношениях, что позволяет обеспечить более четкий переход окраски [130]. Как показали ранее проведенные исследования, более четким и контрастным является переход окраски при использовании смешанного индикатора [61].

Для выбора индикатора при титровании Мономекаина нами использованы следующие соотношения растворов диметилового желтого и метиленового синего 1:0, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1.

*Методика исследования:* около 0,03 г БАС (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 °С, помещали в коническую колбу на 100 мл, растворяли в 10 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты, добавляли 10 мл хлороформа, 2 капли раствора индикатора и титровали при энергичном встряхивании 0,01М раствором ЛСН до изменения окраски хлороформного слоя. Параллельно проводили контрольный опыт. В каждом случае рассчитывали процентное содержание вещества, которое служило критерием выбора индикатора (Табл. 32).

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что состав индикаторов практически не влияет на результаты титрования, что позволяет использовать любой из вариантов смешанного индикатора, представленного в табл. 32. Но при использовании смешанного индикатора диметиловый желтый – метиленовый синий (5:1) переход окраски в точке эквивалентности наиболее четко фиксируется.

Проведенные исследования позволяют представить методику в следующем варианте:

Около 0,03 г БАС (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 °С, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты, добавляют 10 мл хлороформа, 2 капли раствора смешанного индикатора (диметиловый желтый – метиленовый синий (5:1)) и титруют при энергичном

встряхивании 0,01 М раствором ЛСН до изменения желтой окраски хлороформного слоя до голубой. Параллельно проводят контрольный опыт.

Таблица 32

Результаты титрования Мономекаина с использованием различного состава индикатора

Состав индикатора (0,1 % спиртовые растворы, объемные части)		Навеска БАС, г	Объем ЛСН, мл	Содержание БАС, %		Переход окраски индикатора
ДМЖ <sup>1</sup>	МС <sup>2</sup>			x	$\bar{x}$	
1	0	0,0302	11,1	99,71	99,87	от желтой до розовой
		0,0309	11,4	100,09		
		0,0299	11,0	99,80		
1	1	0,0317	11,6	99,27	99,48	от сине- зеленой до синей
		0,0300	11,0	99,47		
		0,0302	11,1	99,71		
2	1	0,0306	11,3	100,18	99,73	от зеленой до синей
		0,0305	11,2	99,62		
		0,0303	11,1	99,38		
3	1	0,0301	11,0	99,14	99,33	от желтовато- зеленой до синей
		0,0305	11,2	99,62		
		0,0298	10,9	99,23		
4	1	0,0301	11,1	100,04	99,87	от зеленовато- желтой до голубой
		0,0302	11,1	99,71		
		0,0307	11,3	99,86		
5	1	0,0297	10,9	99,56	99,80	от желтой до голубой
		0,0301	11,1	100,04		
		0,0299	11,0	99,80		

<sup>1</sup> – диметиловый желтый; <sup>2</sup> – метиленовый синий

#### 5.4.1. Валидация методики

Для фактической оценки пригодности предлагаемой методики количественного определения Мономекаина методом экстракционного титрования проведена валидация по показателям: линейность результатов, сходимость и правильность в аналитической области методики.

*Линейность результатов*

Для установления линейной зависимости осуществляли статистическую обработку выборки, полученной в результате количественного определения навесок исследуемого БАС на семи уровнях концентрации (в диапазоне 70-130 % от количества исследуемого вещества равного 0,03 г, принятого за 100 %) (Табл. 33).

Таблица 33

Результаты изучения линейности результатов количественного определения  
Мономекаина

№ п/п	Уровень навески БАС, %	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики
1	70	0,0210	7,49	99,84	$\bar{x} = 0,0300$ $\bar{y} = 10,65$ $b = 355,05$ $\alpha = - 0,028$ $r = 0,9999$ $S_o^2 = 0,00032$ $S_b = 1,119$ $S_a = 0,034$ $\Delta b = 2,88$ $\Delta \alpha = 0,088$
		0,0212	7,50	99,03	
		0,0210	7,48	99,71	
2	80	0,0240	8,52	99,49	
		0,0241	8,53	99,08	
		0,0241	8,53	99,08	
3	90	0,0270	9,55	99,01	
		0,0271	9,60	99,16	
		0,0271	9,60	99,16	
4	100	0,0297	10,51	99,06	
		0,0301	10,67	99,23	
		0,0299	10,58	99,05	
5	110	0,0332	11,78	99,32	
		0,0330	11,69	99,16	
		0,0329	11,67	99,29	
6	120	0,0360	12,75	99,14	
		0,0361	12,78	99,10	
		0,0360	12,76	99,22	
7	130	0,0391	13,90	99,51	
		0,0391	13,89	99,44	
		0,0391	13,90	99,51	

Уравнение линейной регрессии имеет вид:  $y = 355,05x - 0,028$ , линейность данной функции подтверждает значение коэффициента линейной корреляции ( $r = 0,9999$ ). Из полученных данных следует, что свободный член  $a$  статистически

не значим, т.к.  $t_a = a / S_a = - 0,028 / 0,034 = |0,82|$ , что меньше значения  $t_{\text{табл}}$  (95 %, 7) = 2,36. Следовательно, уравнение линейной регрессии можно представить в виде:  $y = 355,05x$  (Рис. 16). Полученные данные свидетельствуют о пригодности методики для количественного определения Мономекаина в широком диапазоне концентраций.

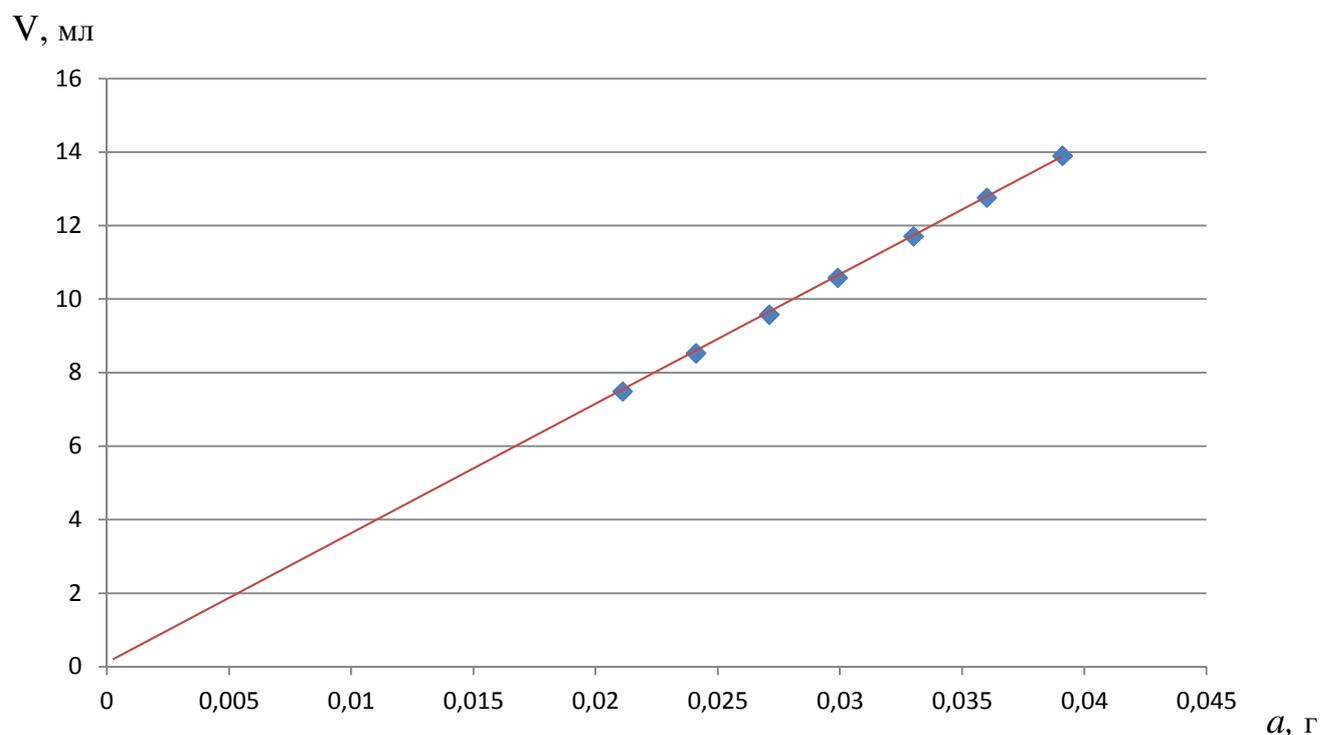


Рис. 16. График зависимости объема титранта 0,01 М раствора ЛСН от навески Мономекаина

### *Сходимость результатов*

Оценку сходимости результатов проводили путем статистической обработки выборок, полученных в ходе количественного определения исследуемого БАС на трех уровнях концентрации в пределах рекомендуемой аналитической области методики (80, 100, 120 % от количества вещества равного 0,03 г, принятого за 100 %) (Табл. 34), из которой следует, что относительное стандартное отклонение результатов количественного определения Мономекаина

не превышает 0,09 %, что соответствует критериям приемлемости при содержании вещества в исследуемом объекте, близком к 100 %.

Таблица 34

Оценка сходимости результатов титрования Мономекаина (серия БАС 050713)

Уровень навески исследуемого БАС, %	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики (P = 95 %; f = 6)
80	0,0240	8,52	99,37	$R_{cp}, \% = 99,46$ $SD = 0,091$ $RSD, \% = 0,091$ $\Delta R = 0,084$
	0,0241	8,57	99,54	
	0,0241	8,55	99,31	
	0,0239	8,50	99,56	
	0,0240	8,53	99,49	
	0,0239	8,49	99,44	
	0,0240	8,53	99,49	
100	0,0300	10,63	99,19	$R_{cp}, \% = 99,28$ $SD = 0,088$ $RSD, \% = 0,089$ $\Delta R = 0,082$
	0,0297	10,55	99,44	
	0,0301	10,67	99,23	
	0,0299	10,61	99,33	
	0,0300	10,64	99,28	
	0,0300	10,63	99,19	
	0,0302	10,71	99,27	
120	0,0359	12,75	99,42	$R_{cp}, \% = 99,36$ $SD = 0,089$ $RSD, \% = 0,090$ $\Delta R = 0,082$
	0,0359	12,76	99,50	
	0,0362	12,84	99,29	
	0,0359	12,75	99,42	
	0,0360	12,77	99,30	
	0,0361	12,80	99,25	
	0,0360	12,78	99,37	

#### *Правильность методики*

Правильность методики оценивали по результатам титрования трех серийных образцов Мономекаина путем статистической обработки полученных данных. Полученные результаты (Табл. 35) позволяют сделать вывод о том, что методика дает правильные воспроизводимые результаты, найденное содержание Мономекаина близко к 100 %, а величины относительных погрешностей невелики.

Исходя из проведенных исследований можно сделать заключение, что по характеристикам линейность, сходимость и правильность методика экстракционного титрования соответствует установленным требованиям и может быть использована для количественного определения Мономекаина.

Таблица 35

## Результаты количественного определения серийных образцов Мономекаина

Серия исследуемого БАС	Навеска БАС, г	Эквивалентный объем титранта, мл	Содержание БАС, %	Метрологические характеристики (P = 95 %; f = 6)
250712	0,0300	10,64	99,28	$\bar{x} = 99,35$ $S = 0,068$ $S_{\bar{x}} = 0,026$ $\Delta\bar{x} = 0,063$ $\bar{\varepsilon} = 0,063 \%$ $\varepsilon = 0,17 \%$
	0,0300	10,65	99,37	
	0,0297	10,55	99,44	
	0,0301	10,68	99,32	
	0,0302	10,71	99,27	
	0,0299	10,62	99,43	
	0,0300	10,65	99,37	
050713	0,0300	10,63	99,19	$\bar{x} = 99,28$ $S = 0,086$ $S_{\bar{x}} = 0,033$ $\Delta\bar{x} = 0,080$ $\bar{\varepsilon} = 0,080 \%$ $\varepsilon = 0,21 \%$
	0,0302	10,71	99,27	
	0,0300	10,64	99,28	
	0,0299	10,61	99,33	
	0,0300	10,63	99,19	
	0,0297	10,55	99,44	
	0,0302	10,71	99,27	
080813	0,0302	10,72	99,37	$\bar{x} = 99,35$ $S = 0,096$ $S_{\bar{x}} = 0,036$ $\Delta\bar{x} = 0,089$ $\bar{\varepsilon} = 0,090 \%$ $\varepsilon = 0,24 \%$
	0,0299	10,62	99,43	
	0,0301	10,68	99,32	
	0,0300	10,64	99,28	
	0,0300	10,63	99,19	
	0,0298	10,59	99,48	
	0,0300	10,65	99,37	

Методика экстракционного титрования имеет определенные преимущества перед методикой неводной ацидиметрии: возможность определения количественного содержания основного вещества в присутствии продуктов разложения, т.к. существенным фактором в этом методе кроме названных ранее, является молярная масса определяемого вещества, которая должна быть не менее 200. Перспективной лекарственной формой Мономекаина является раствор для

инъекций, при определении количественного содержания БАС в котором методика экстракционного титрования является более предпочтительной.

### **Выводы по главе 5**

1. Установлено значение  $pK_a$  в водном растворе Мономекаина. Полученные результаты показывают необходимость применения метода ацидиметрии в среде протогенного растворителя.
2. Разработана методика количественного определения методом ацидиметрии в среде протогенных растворителей – ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида с потенциометрическим способом индикации. Методика валидирована по показателям сходимости, линейности и правильности результатов, апробирована с положительным заключением в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» (г. Екатеринбург).
3. Разработана и валидирована методика количественного определения БАС методом экстракционного титрования, применение которой перспективно на стадии разработки лекарственной формы, в частности, раствора для инъекций.

## ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И УСТАНОВЛЕНИЕ СРОКА ГОДНОСТИ ИССЛЕДУЕМОГО БАС

Изучение стабильности субстанции необходимо для установления времени, в течение которого вещество сохраняет неизменными физические, химические, биологические свойства, т.е. удовлетворяет всем требованиям нормативной документации [77]. В связи с этим для субстанции Мономекаина проведены исследования по изучению стабильности и сроков годности.

### 6.1. Установление срока годности Мономекаина методом «ускоренного старения»

Установление сроков годности проводили согласно требованиям ГФ XII [23]. Одним из способов установления стабильности веществ является метод «ускоренного старения». Данный метод основан на законе Вант-Гоффа, по которому можно установить зависимость между сроком годности вещества и температурой хранения экспериментальной серии субстанции:

$$C = A \frac{t_3 - t_{xp}}{10}, \text{ где}$$

$t_3$  – температура экспериментального хранения (60 °С);

$t_{xp}$  – температура хранения (20 °С);

$A$  – температурный коэффициент скорости химической реакции при увеличении температуры на 10 °С ( принято  $A = 2$ ).

Исследования проводили на 3-х сериях субстанции Мономекаина (050713, 080813, 170314) при температуре 60 °С. Образцы помещали в склянки темного стекла с притертыми пробками. Контроль качества проводили через временные промежутки (11,5 дней) эквивалентные 6 месяцам хранения в естественных условиях по показателям, приведенным в табл. 36.

Нормы качества субстанции Мономекаина, контролируемые при установлении срока годности

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический ГФ XII, ч. I, с.17, 484	Белый кристаллический порошок без запаха
Подлинность	Инфракрасная спектрометрия	ИК спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом в области от 4000 до 400 см <sup>-1</sup> по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра Мономекаина
	Ультрафиолетовая спектрофотометрия	УФ спектр поглощения 0,001% раствора в спирте этиловом 96 % субстанции в области 220-350 нм должен иметь максимум поглощения при 244±1 нм
	Химические реакции	Реакция образования азокрасителя после кислотного гидролиза – осадок оранжево-красного цвета
С дифениламином – синее окрашивание		
Температура плавления	ГФ XII, ч. I, с. 29	137 – 139 °С
Количественное содержание	Ацидиметрическое титрование в неводной среде	Содержание ЛС не менее 99,0 % C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O • HNO <sub>3</sub> в пересчете на сухое вещество

Результаты эксперимента (Приложение 5) показали, что субстанция Мономекаина остается стабильной в течении 69 суток экспериментального хранения, что соответствует 1104 суткам хранения в естественных условиях, рассчитанных по правилу Вант-Гоффа:

$$C = A^{\frac{t_2 - t_{xp}}{10}} = 2^{\frac{60 - 20}{10}} = 16 \quad - \quad \text{коэффициент соответствия}$$

Отсюда срок годности

$$16 \cdot 69 = 1104 \text{ сут. , что составляет 3 года.}$$

Температура хранения, позволяющая обеспечить установленный срок годности, составляет:

$$t_{\text{xp}} = t_3 + \frac{10}{\lg A} * \lg \frac{C_3}{C} = 60 + \frac{10}{\lg 2} * \lg \frac{69}{1104} = 20 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Максимально допустимая температура хранения равна:

$$t_{\text{макс. доп.}} = 20^\circ + \frac{10}{\lg A} * \lg \frac{C_3}{2 * 365} = 20 + \frac{10}{\lg 2} * \lg \frac{1104}{730} = 26 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Таким образом, в результате проведенных исследований методом «ускоренного старения», установлен срок годности и температурный режим хранения субстанции Мономекаина.

## 6.2. Стабильность БАС при хранении в естественных условиях

Изучение стабильности Мономекаина проводили также в естественных условиях. Для этого Мономекаин серий 141209 и 290110 хранили в сухом защищенном от света месте в склянках оранжевого стекла с притертыми пробками при комнатной температуре.

Контроль качества проводили по основным показателям (табл. 36), через промежутки времени, равные 1 году хранения.

Проведенные исследования (Приложение 6) показали, что стабильность субстанции Мономекаина при хранении в естественных условиях сохраняется в течение не менее 4-х лет. Таким образом, может быть установлен предварительный срок годности – 4 года.

На основании проведенных исследований подготовлен проект ФС на Мономекаин субстанцию, методики оценки качества которого апробированы с положительным заключением в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» в г. Екатеринбурге (Приложение 7). В спецификации (Приложение 8) отражены способы испытаний

Мономекаина, включенные в проект ФС. Используемые способы испытаний субстанции соответствуют современному уровню фармакопейного анализа. Проект ФС будет использован при оценке качества синтезированных образцов Мономекаина при его углубленном фармакологическом исследовании и разработке лекарственных форм.

Фрагменты диссертационной работы использованы в лекционном курсе «Инновационные направления в создании лекарственных средств» для обучающихся в интернатуре ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» (Приложение 9).

### **Выводы по главе 6**

1. Найдено, что стабильность исследуемого БАС, установленная методом «ускоренного старения» при температуре 60 °С, составляет не менее 3-х лет, а температурный режим хранения – от 20 до 26 °С. Испытания по исследованию стабильности продолжаются.
2. Установлено, что срок хранения Мономекаина в естественных условиях при комнатной температуре в защищенном от света месте составляет не менее 4-х лет.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Анализ литературных источников, касающийся проблемы лечения аритмий, позволяет сделать вывод об актуальности исследований по созданию новых эффективных и безопасных антиаритмических средств. Поиск ведется среди БАС различного химического строения, в т.ч. в ряду анилидов аминокарбоновых кислот, представителем которых является Мономекаин – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат.
2. На основании проведенных исследований субстанции Мономекаина установлены показатели качества, характеризующие ее подлинность и чистоту: описание, растворимость, температура плавления, потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, тяжелые металлы, хлориды, сульфаты и микробиологическая чистота. С целью установления подлинности Мономекаина изучены реакции на амидную группу, третичную аминогруппу и нитрат-анион. В проект фармакопейной статьи включены реакции образования азокрасителя после предварительного кислотного гидролиза (амидная группа), чувствительность которой 0,5 мг, и реакция окисления дифениламина (нитрат-анион) с чувствительностью 0,05 мг.
3. Исследованы УФ, ИК и ЯМР  $^1\text{H}$  спектры БАС. ИК спектр включен как индивидуальная характеристика субстанции в проект ФС на Мономекаин. В УФ области спектра для 0,001 % спиртового раствора исследуемого вещества определен максимум поглощения при  $\lambda = 244 \pm 1$  нм, значение которого введено в проект ФС, и удельный показатель поглощения в интервале 424-434. ЯМР  $^1\text{H}$  спектр использован для подтверждения строения и чистоты образцов Мономекаина, синтезированных для экспериментальных исследований.
4. С целью испытания Мономекаина на предельное содержание специфических примесей применены хроматографические методы: для определения примеси *o*-толуидина использованы методы ТСХ и ВЭЖХ, его содержание нормировано – не более 0,2 %. Остаточные органические

растворители: ацетон (не более 0,5 %) и бензол (не более 2 ppm) определены методом ГХ, их содержание в анализируемых образцах Мономекаина не превышает норм, установленных ГФ XII.

5. Разработаны и валидированы методики количественного определения Мономекаина титриметрическими методами: ацидиметрии в неводной среде и экстракционного титрования. Проведена валидация методик по показателям: линейность, правильность и сходимость результатов. Результаты валидации показали пригодность разработанных методик для аналитических целей. Методика ацидиметрии в неводной среде включена в проект ФС.
6. Установлена стабильность Мономекаина при хранении при комнатной температуре в защищенном от света месте – не менее 4-х лет. Согласно результатам испытания Мономекаина методом «ускоренного старения» (69 суток при температуре 60 °С), рассчитанный срок его хранения при температуре 20-26 °С составляет не менее 3-х лет. Испытания по установлению стабильности продолжаются.
7. На основании проведенных исследований составлен проект ФС на субстанцию Мономекаина, который апробирован с положительным результатом в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» г. Екатеринбург. Представленные в проекте ФС способы испытаний будут использованы при оценке качества синтезируемых образцов Мономекаина, предназначенных для углубленных фармакологических исследований и разработки лекарственной формы.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алова, Н. Кудесан – энергия и защита / Н. Алова // Новая аптека. – 2013. – № 2. – С. 42.
2. Альберт, А. Константы ионизации кислот и оснований: пер. с англ. / А. Альберт, Е. Сергент. – Л. Химия, 1964. – 180 с.
3. Анисимова, В. А. Синтез и фармакологическая активность солей 3-ацетил-2-г-9-диалкиламиноэтилимидазо[1,2-а]-бензимидазолов / В.А. Анисимова, А. А. Спасов, И. Е. Толпыгин [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2010. – Т. 44 – № 3. – С. 8-13.
4. Анисимова, В. А. Синтез и фармакологическая активность 1-диалкил(алкил)аминоэтил-2,3-дигидроимидазо-[1,2-а]-бензимидазолов / В. А. Анисимова, А. А. Спасов, И. Е. Толпыгин [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2010. – Т. 44. – № 5. – С. 8-12.
5. Ардашев, А.В. Клиническая аритмология / А.В. Ардышев // М.: Медпрактика-М, – 2009. – 1220 с.
6. Арсеньева, И.Л. Кардиостимулятор / И.Л. Арсеньева // Новая аптека – 2010. – № 12. – С. 45-48.
7. Бабанов, С.А. Кардиостимулятор / С.А. Бабанов // Новая аптека – 2013. – № 5. – С. 28-32.
8. Беккер, Ю. Хроматография. Инструментальная аналитика: методы хроматографии и капиллярного электрофореза / Ю.Беккер. – М.: Техносфера, 2009. – 472 с.
9. Белобородов, В.Л. Количественное определение компонентов метацизина в биологических жидкостях / В.Л. Белобородов, М.А. Залеская, Н.А. Тюкавкина // Хим.-фармац. журн. – 2000. – № 12. – С. 41-44.
10. Берштейн, И.Я. Спектрофотометрический анализ в органической химии / И.Я. Берштейн, Ю.Л. Каминский // 2-е изд. – Л.: Химия, 1986. – 200 с.: ил.

11. Благова, О.В. Аритмогенная дисплазия правого желудочка: полиморфизм клинических проявлений / О.В. Благова, А.В. Недоступ, Н.С. Морозова [и др.] // Кардиология. – 2012. – № 4. – С. 85-94.
12. Бокерия, Л.А. Сердечно-сосудистые заболевания в Российской Федерации на рубеже веков: смертность, распространенность, факторы риска / Л.А. Бокерия, И.Н. Ступаков, И.В. Самородская, Ю.М. Бонтарь / Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – т. 8 – № 5. – 2007. – С. 5-11.
13. Буланова, Е. Трудный выбор  $\beta$ -адреноблокаторов в клинической практике / Е. Буланова, О. Драпкина, И. Попова // Врач. – № 8. – 2012. – С. 40-43.
14. Буланова, Н.А. Впервые возникшая фибрилляция предсердий у активно наблюдаемых больных в условиях поликлиники / Н.А. Буланова, Л.Л. Стажадзе, Л.А. Алексеева [и др.] // Кардиология. – 2012. – № 1. – С. 39-43.
15. Васильева, Г. Современные антиаритмические средства / Г. Васильева, Е. Афанасьева, Е. Арзамасцев [и др.] // Врач. – 2012. – № 3. – С. 36-38.
16. Вергейчик, Т.Х. Токсикологическая химия / Т.Х. Вергейчик; под ред. проф. Е.Н. Вергейчика. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с. : ил.
17. ВФС 42-2481-95 раствор Неовира
18. Гайковая, Л.Б. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты: лабораторные методы в оценке их многофакторного действия / Л.Б. Гайковая // Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2010. – вып. 4. – т. 8. – С. 3-11.
19. Гашкова, О.В. Синтез, свойства и биологическая активность производных ариламидов аминокарбоновых кислот: дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 / Оксана Владиславовна Гашкова: ПГФА. – Пермь., 2009. – 144 с.
20. Гашкова, О.В. Синтез и антиаритмическая активность четвертичных производных и минеральных солей орто-толуидина диэтиламиноуксусной кислоты / О.В. Гашкова, В.И. Панцуркин, И.П. Рудакова [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2008. – Т. 42 – № 12. – С. 8-10.

21. Глушков, Р.Г. Опыт создания новых лекарственных средств с использованием традиционных технологий / Р.Г. Глушков, С.Д. Южаков, // Хим.-фармацевт. журн. – 2011. – Т. 45 – № 9. – С. 36-38.
22. Глушков, Р.Г. Новая группа антиаритмических средств III класса – производных пиперидил-4-этана / Р.Г. Глушков, С.Д. Южаков, А.И. Львов [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2011. – т. 45. – № 2. – С. 3-12.
23. Государственная фармакопея Российской Федерации – 12-е изд. / Минздравсоцразвития России. – Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. – 704 с.
24. Гуляев С.А., Случай кардиоцеребрального синдрома у больной со сложными нарушениями сердечного ритма / С.А. Гуляев // Фарматека. – 2012. – № 9 (242). – С. 76-79.
25. Динов Б., Комплексная терапия при нарушениях ритма и проводимости сердца у детей / Б. Динов // Врач. – 2010. – № 8. – С. 21-23.
26. Дрейд Д., Подбор антигипертензивной терапии: тахикардия в сочетании с болезнями легких / Д. Дрейд // Новая аптека. – 2012. – № 11. – С. 44-45.
27. Дупляков, Д. Лечение синдрома поступательной ортостатической тахикардии и неадекватной синусовой тахикардии / Д. Дупляков, О. Горбачева, Г. Головина // Врач. – 2012. – № 4. – С. 42-45.
28. Егоров, Ю.В. Влияние антиаритмического препарата III класса ниферидила (РГ-2) на биоэлектрическую активность миокарда легочных вен / Ю.В. Егоров, В.И. Столбова, В.С. Кузьмин [и др.] // Кардиология. – 2012. – № 2. – С. 47-51.
29. Загидулин, Н. Возможности применения I<sup>F</sup>-ингибитора ивабрадина при синусовых тахикардиях / Н. Загидулин, Е. Травникова, Р. Зулкарнеев [и др.] // Врач. – 2011. – № 7. – С. 40-43.
30. Задионченко, В.С. Дифференциальная диагностика «широких» тахикардий / В.С. Задионченко, Г.Г. Шехян, А.М. Щикота [и др.] // Рус. мед. журнал. – 2012. – № 14. – С. 734-740.

31. Зенкевич, И.Г. Зависимость газохроматографических индексов удерживания от соотношения характеризуемых и рецептных компонентов / И.Г. Зенкевич, И.С. Ивлева // Журн. аналитической химии. – 2011. – т. 66. – № 1. – С. 47-55.
32. Зулкарнеев, Р. Влияние комбинации ивабрадина и сальбутамола на сердечный ритм у больных ХОБЛ и ИБС / Р. Зулкарнеев, Г. Абдрахманова, Н. Загидуллин [и др.] // Врач. – 2010. – № 2. – С. 48-51.
33. Искендеров, Б. Тревожные расстройства у пациентов с искусственным водителем ритма сердца: роль кардиостимуляции / Б. Искендеров, Е. Петрова // Врач. – 2011. – № 9. – С. 78-80.
34. Каденаци, И.Б. Оценка качества инъекционных препаратов цефотаксима / И.Б. Каденаци, Л.В. Шустова, Н.Н. Дементьева // Фармация. – 2009. – № 7. – С. 26-28.
35. Книжник, А.З. Хроматография в тонких слоях сорбента в фармацевтическом анализе / А.З. Книжник, В.Я. Лебедеко // уч. пособие для студ. фарм. факультетов (институтов), М. – 1974. – 81 с.
36. Кокорина, Н.О. Идентификация  $\beta$ -адреноблокаторов хроматографическим методом / Н.О. Кокорина, В.П. Новоселов, М.А. Ханина // Фармация. – 2009. – № 7. – С. 12-14.
37. Колбин, А.С. Фармакоэкономическая экспертиза дронедарона при мерцательной аритмии у больных старших возрастных групп / А.С. Колбин, А.А. Курылев, Ю.Е. Балыкина [и др.] // Качественная клиническая практика. – 2011. – № 1. – С. 44-50.
38. Комарова, Н.В. Если ритм сердца дает сбои / Н.В. Комарова // Новая аптека №3 2010 часть 2; МЦФЭР Медицина; март 2010. – 128 с.
39. Крамаренко, В.Ф. Фотометрия в фармацевтическом анализе / В.Ф. Крамаренко, В.И. Попова // «Здоров'я», Киев, 1972. – 191 с.
40. Крыжановский, С.А. Контроль частоты сердечных сокращений – блокаторы  $f$ -каналов / С.А. Крыжановский, М.Б. Вититнова, // Физиология человека. – Т. 35. – № 2. – март-апрель 2009. – С.112-123.

41. Кубынин А., Препараты калия и магния в повседневной клинической практике / А. Кубынин // Врач. – 2012. – № 6. – С. 68-72.
42. Кудряшова, Н.И. Ариламида диалкиламиноуксусных кислот / Н.И. Кудряшова, А.Л. Ремизов, Н.В. Хромов-Борисов // Журнал общей химии. – 1959. – т. XXIX. – вып. 4. – С. 1240-1244.
43. Лупанов В.П. Кардиоселективный  $\beta$ -блокатор бисопролол в лечении больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями / В.П. Лупанов // Рус. мед. журн. – 2012. – № 3. – С. 86-90.
44. Львова, М.Ш., Термический анализ в оценке качества и разработка современных технологий получения лекарственных средств / М.Ш. Львова [и др.] // Тез. докл. 10 Всесоюзного совещания по термическому анализу. – М., 1998. – С. 157-169.
45. Мазур Н.А., Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты: доказательства пользы и перспективы их применения / Н.А. Мазур // Кардиология. – 2012. – № 4. – С. 80-84.
46. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский // 16-е изд., перераб. испр. и доп. – М.: Новая волна; Издатель Умеренков, 2010. – 1216 с.
47. Мелехов А.В., Преимущества использования бисопролола и амлодипина в фиксированной комбинации / А.В. Мелехов, Е.Е. Рязанцева // Поликлиника. – 2013. – № 1 (1). – С. 3-6.
48. Митькина, Л.И. Подходы к оценке пригодности аналитических методик при проведении экспертизы качества лекарственных средств / Л.И. Митькина, Е.Л. Ковалева // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2012. – № 2. – С. 6-9.
49. Могутова, П. Прогнозирование риска возникновения желудочковых аритмий у больных СД<sub>2</sub> и АГ / П. Могутова, Н. Потешкина // Врач. – 2012. – № 7. – С. 66-68.
50. Моисеев С.В., Фибрилляция предсердий: где проходит грань между «чистыми» антиаритмиками и не антиаритмическими препаратами? / С.В. Моисеев // Кардиология. – 2012. – № 2. – С. 85-90.

51. Моисеев С.В., Возможности использования омега-3 полиненасыщенных жирных кислот при сердечных аритмиях / С.В. Моисеев // Фарматека – 2011. – № 8 (221). – С. 14-20.
52. НД 42-10540-99 Соталол
53. НД ЛСР 000058-020507 Амиодарона гидрохлорид
54. НД ЛСР 004533/07-071207 Тримекаин
55. НД ЛСР-005691/08-210708 Амиодарон
56. НД П N014369/01-170308 Аллапинин
57. НД Р N002386/01-290609 Фурагин таблетки 50 мг
58. НД Р N003568/01-081209 Нитроксилин
59. Недоступ, А.В. Принципы комбинированной антиаритмической терапии / А.В. Недоступ, О.В. Благова // Русс. мед. журн. – 2005. – № 11. – С. 767-774.
60. Некрошус, Е.С. Получение соединений включения ортофена и индометацина с Р-циклодекстрином и их дериватографический анализ / Е.С. Некрошус, В.Ю. Решетняк // Фармация. – 1989. – № 3. – С. 29-34.
61. Непогодина, Е.А. Разработка методик анализа и стандартизация Пефармина, проявляющего гипотензивное действие: дис. ... канд. фармацевт. наук: 14.04.02 / Екатерина Александровна Непогодина: ПГФА. – Пермь., 2011. – 161 с.
62. Олейников, В. Пульсурежающая фармакотерапия при синусовом ритме / В. Олейников, А. Кулюцин, М. Лукьянова // Врач. – 2010. – № 11. – С. 26-30.
63. Органикум. Практикум по органической химии // т.1, перевод с немецкого доктора хим. наук В.М. Потапова, канд. хим. наук С.В. Пономарева, Издательство «МИР», М. – 1979. – 463 с.
64. ОФС 42-0034-07 Температура плавления
65. ОФС 42-0042-07 Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях
66. ОФС 42-0043-07 Спектрометрия в инфракрасной области
67. ОФС 42-0046-07 Спектроскопия ядерного магнитного резонанса
68. ОФС 42-0048-07 Ионометрия
69. ОФС 42-0049-07 Растворимость
70. ОФС 42-0050-07 Степень окраски жидкостей

71. ОФС 42-0051-07 Прозрачность и степень мутности жидкостей
72. ОФС 42-0056-07 Сульфатная зола
73. ОФС 42-0057-07 Остаточные органические растворители
74. ОФС 42-0059-07 Тяжелые металлы
75. ОФС 42-0067-07 Микробиологическая чистота
76. ОФС 42-0074-07 Фармацевтические субстанции
77. ОФС 42-0075-07 Сроки годности лекарственных средств
78. ОФС 42-0078-08 Потенциметрическое титрование
79. ОФС 42-0080-08 Кислотно-основное титрование в неводных средах
80. ОФС 42-0087-08 Потеря в массе при высушивании
81. ОФС 42-0094-09 Тонкослойная хроматография
82. ОФС 42-0095-09 Газовая хроматография
83. ОФС 42-0096-09 Высокоэффективная жидкостная хроматография
84. ОФС 42-0107-09 Сульфаты
85. ОФС 42-0109-09 Хлориды
86. ОФС 42-0113-09 Валидация аналитических методик
87. ОФС 42-0219-07 Атенолол
88. ОФС 42-0232-07 Димедрол
89. ОФС 42-0251-07 Лидокаина гидрохлорид
90. ОФС 42-0255-07 Мельдоний
91. ОФС 42-0267-07 Папаверина гидрохлорид
92. Павлова, С.А. Термический анализ органических и высокомолекулярных соединений / С.А. Павлова, И.В. Журавлева, Ю.И. Толчинский – М.: Химия, 1983. – 120 с.
93. Подзолков, В.И. Пропафенон в лечении нарушений ритма сердца / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова // Кардиология. – 2012. – № 5. – С. 70-73.
94. Попков, В.А. Зонная плавка и дериватографическое исследование празиквантела / В.А. Попков, Г.М. Дугачева, М.В. Кочанова // Фармация. – 1994. – № 6. – С. 9-12.

95. Попков, В.А. Термодинамические методы характеристики чистоты жидких лекарственных препаратов / В.А. Попков, Г.М. Дугаева, А.А. Лузин // 15 Международная конференция по химической термодинамике в России, Москва, 27 июня – 2 июля, 2005: Тезисы докладов. Т. 2. – М., 2005. – С. 29-37.
96. Преч Э. Определение строения органических соединений / Э. Преч, Ф. Бюльман, К. Аффольтер // перевод с англ. – М.: Мир, БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – 438 с.
97. Пшеницын, А.И. Нарушения ритма сердца у пациентов с артериальной гипертензией и их контроль с помощью соталола / А.И. Пшеницын, Ф.М. Хежева // Фарматека. – 2008. – № 7 (161). – С. 19-23.
98. Росторockкая, В.В. Нарушения ритма сердца у больных с обструктивным апноэ сна, перенесших инфаркт миокарда, на этапе амбулаторной реабилитации / В.В. Росторockкая, А.П. Иванов, И.А. Эльгардт [и др.] // Кардиология. – 2012. – № 5. – С. 4-7.
99. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности / методические рекомендации. М.: – Издательство «Спорт и Культура – 2000», 2007. – 192 с.
100. Руководство по инструментальным методам исследования при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / под ред. Быковского С.Н., проф., д.х.н. Василенко И.А., к.м.н. Харченко М.И., к.фарм.н. Белова А.Б., к.фарм.н. Шохина И.Е., к.п.н. Дориной Е.А. – М. Изд-во Перо, 2014. – 656 с.
101. Руководство по надлежащей производственной практике лекарственных средств для человека // Ассоциация Российских фармацевтических производителей. – М. – 2008. – 283 с.
102. Сергеева, М.С. Разработка методик анализа твердой дозированной лекарственной формы (капсул) кардиоциклида / М.С. Сергеева, Л.Н. Грушевская, Б.М. Пятин [и др.] // Хим.-фармац. Журнал. – 2010. – № 5. – С. 46-50.

103. Сидоренко, Б.А.  $\beta$ -блокаторы в практике кардиолога: место бисопролола / Б.А. Сидоренко, Д.А. Затейщиков, М.А. Евдокимова // Рус. мед. журн. – 2005. – т.13. – № 11. – С. 775-779.
104. Скоробогатова, Т.А. Сравнительное изучение антиаритмического действия местных анестетиков амидной группы / Т.А. Скоробогатова, М.Н. Ивашев, // Фармация. – 2011. – № 2 – С. 38-40.
105. Сливкин А.И. Функциональный анализ органических лекарственных веществ / А.И. Сливкин, Н.П. Садчикова; под ред. Академика РАМН, проф. А.П. Арзамасцева // Воронеж. Воронежский государственный университет, 2007. – 426 с.
106. Смит В.А., Основы современного органического синтеза / В.А. Смит, А.Д. Дильман // М.: БИНОМ, Лаборатория знаний. – 2009. – 750 с.
107. Соколов С.В., Аллапинин и современные подходы к лечению нарушений ритма сердца / С.В. Соколов // Рус. мед. журнал. – 2012. – № 4. – С. 177-181.
108. Тарасевич Б.Н., ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы / Б.Н. Тарасевич // МГУ им. М.В. Ломоносова., М. – 2012. – 54 с.
109. Фармакология / Под ред. Проф. Р.Н. Аляутдина. – 4-е изд., перераб. и доп. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 832 с.
110. Филимонова, С.М. Определение антиаритмического средства нифидипина в сыворотке крови с использованием обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии / С.М. Филимонова, Н.С. Богомолова, В.В. Чистяков // Хим.-фармац. журн. – 2011. – № 12. – С. 45-47.
111. ФС 42-11479-01 Лидокаина гидрохлорид
112. ФС 42-1876-82 Аймалин
113. ФС 42-2615-89 Атропина сульфат
114. ФС 42-2919-99 Этацизин
115. ФС 42-3147-95 Верапамил таблетки
116. ФС 42-3472-98 Раствор морфина гидрохлорида для инъекций
117. ФСП 42-0002291502 Раствор тримекаина для инъекций 2%

118. ФСП 42-0017420703 Атенолол
119. ФСП 42-0034015200 Новокаионамид
120. ФСП 42-0036343602 Лидокаина гидрохлорид спрей 2 %
121. ФСП 42-0053497904 Предуктал
122. ФСП 42-0067489703 Нибентан
123. ФСП 42-0341482403 Триметазидин таблетки
124. Хайруллина, В.Р. Модификация N1-(2,6-диметилфенил)-N2,N2-диэтилглицинамида и 4-амино-N-[2-(диэтиламино)этил]бензамида с целью усиления их антиаритмического действия / В.Р. Хайруллина, Г.П. Тарасов, А.Я. Герчиков [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2011. – № 10. – С. 17-24.
125. Хайруллина, В.Р. Изучение взаимосвязи «структура – антиаритмическая активность» в ряду производных N-фенилацетамида и амидов ароматических карбоновых кислот / В.Р. Хайруллина, Г.П. Тарасов, А.Я. Герчиков [и др.] // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56. – вып. 4. – С. 471-479.
126. Харкевич Д.А., Основы фармакологии / Д.А. Харкевич // Учебник для вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
127. Хохлов, А.Л. Применение нибентана и пропафенона при аритмиях / А.Л. Хохлов, А.Ю. Малыгин, С.Р. Давлетов // Ремедиум. – 2007. – № 6 – С. 22-24.
128. Хроматография в тонких слоях сорбента / под редакцией Э. Шталя, перевод с немецкого канд. техн. наук М.И. Яновского // Издательство «МИР», – М. – 1965. – 503 с.
129. Чапурных, А.В.  $\beta$ -адреноблокаторы в лечении аритмий / А.В. Чапурных // Кардиология. – 2012. – № 6. – С. 86-92.
130. Чекрышкина, Л.А. Двухфазное титрование в фармацевтическом анализе: теоретические основы и практическое применение: дис. ... д. фармац. наук: 15.00.02 / Людмила Александровна Чекрышкина: ПФИ МЗ РСФСР. – Пермь., 1991. – 287 с.
131. Чичиканов, Г.Г. К фармакологии нового антиаритмического препарата V класса / Г.Г. Чичиканов, И.Б. Цорин // Вестник аритмологии. – 1999. – № 13. – С. 49-53.

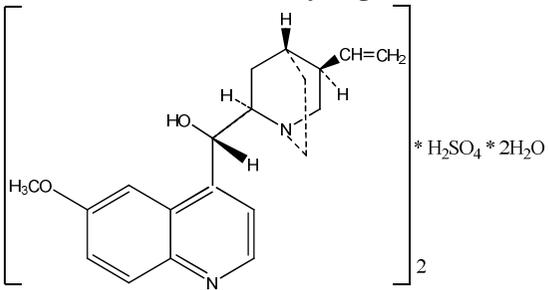
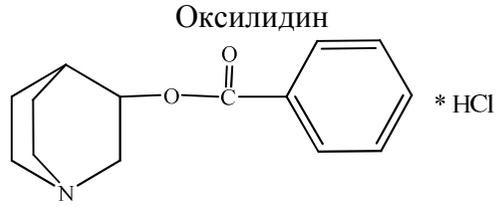
132. Чичиканов, Г.Г. Электрофизиологические свойства нового антиаритмического препарата V класса брадизола, обладающего специфическим брадикардическим действием / Г.Г. Чичиканов, И.Б. Цорин, В.В. Лысковцев [и др.] // Вестник аритмологии. – 2001. – № 4. – С. 45-48.
133. Шепель, Ф.Г. Синтез и фармакологические свойства алкиламмонийных солей N,N'-малонил-бис-*n*-аминобензойной кислоты / Ф.Г. Шепель, Р.Н. Зозуля, Д.Ф. Шепель [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2010. – т. 44 – № 9. – С. 3-5.
134. Шилов, А.М. Лечение сердечно-сосудистых заболеваний в практике врача первичного звена здравоохранения: место препаратов калия и магния (Панангин) / А.М. Шилов, М.В. Мельник, А.О. Осия [и др.] // Рус. мед. журн. – 2012. – № 3. – С. 102-106.
135. Шубик, Ю.В. Амиодарон в международных рекомендациях по лечению аритмий / Ю.В. Шубик // Рус. мед. журнал. – 2010. – № 10 – С. 646-651.
136. Alejandro J. Ramires, Mohammad A. Mottaleb, Bryan W. Brooks, C. Kevin Chambliss, Analysis of Pharmaceuticals in Fish Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry // Analytical Chemistry, April 15, 2007. – Vol. 79, № 8. – P. 3155-3163.
137. Ali A Sovari, Sudden Cardiac Death // Clinical and Research Fellow in Cardiovascular Medicine, Oct 21, 2009. – № 10. – P. 65-78.
138. Anne B. Curtis, MD, FACC, Filling the need for new antiarrhythmic drugs to prevent shocks from implantable cardioverter defibrillators // J Am Coll Cardiol – 2004. – № 43. – P. 44-46.
139. Antoine-Michel Siouffi, From Paper to Planar: 60 Years of Thin Layer Chromatography // Separation & Purification Reviews. – 2005. – № 34. – P. 155-180.
140. Binghe Gu, Hernan Cortes, Jim Luong, Matthias Pursch, Patric Eckerle, Robert Mustacich, Low Thermal Mass Liquid Chromatography // Analytical Chemistry, February 15, 2009. – Vol. 81, № 4. – P. 1488-1495.

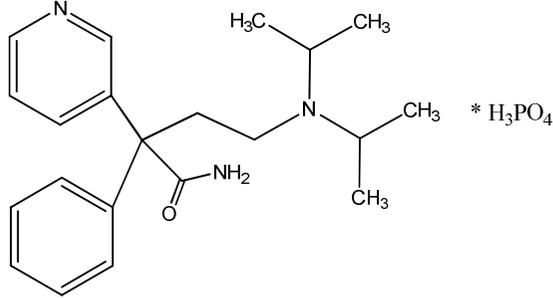
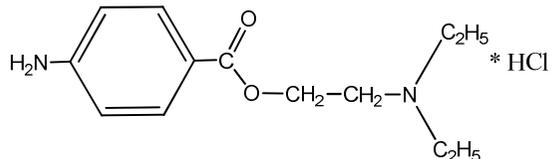
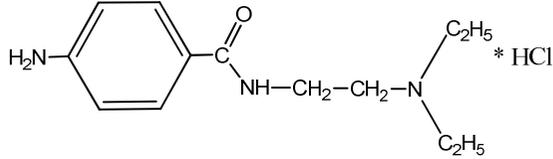
141. Concepción López, Manuel Martínez, Mercè Rocamora, and Laura Rodríguez, Alternative pH-Shift Ion-Exchange Chromatography: Quantitative Spectroscopic Monitoring of the Progress of a Reaction // *Journal of Chemical Education*, March 2008. – Vol. 85, № 3. – P. 426-428.
142. David C. Stone, Teaching Chromatography Using Virtual Laboratory Exercises // *Journal of Chemical Education*, September 2007. – Vol. 84, № 9. – P. 1488-1496.
143. Diane Beauchemin, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry // *Analytical Chemistry*, June 15, 2010. – Vol. 82, № 12. – P. 4786-4810.
144. Frank L. Dorman, Joshua J. Whiting Jack W. Cochran Jorge Gardea-Torresdey, Gas Chromatography // *Analytical Chemistry*, June 15, 2010. – Vol. 82, № 12. – P. 4775-4785.
145. Jan Bladec, Slawomir Neffe, Application of Thin-Layer Chromatography in Clinical Chemistry // *Separation and purification reviews*, 2003. – Vol. 32, № 1. – P. 61-120.
146. Jonathan P. Piccini, Vic Hasselblad, Eric D. Peterson, Jeffrey B. Washam, Robert M. Califf, David F. Kong, Comparative Efficacy of Dronedarone and Amiodarone for the Maintenance of Sinus Rhythm in Patient With Atrial Fibrillation FREE // *Clinical Research*, Sept. 2009. – № 54 (12). – P. 1089-1095.
147. Joseph Sherma, Planar Chromatography // *Analytical Chemistry*, June 15, 2010. – Vol. 82, № 12. – P. 4895-4910.
148. Herbert R. Ellison, Enthalpy of Vaporization by Gas Chromatography // *Journal of Chemical Education*, July 2005. – Vol. 82, № 7. – P. 1086-1088.
149. Kathryn R. Williams, Colored Bands: History of Chromatography // *Journal of Chemical Education*, August 2002. – Vol. 79, № 8. – P. 922-923.
150. Mary E. O'Donnell, Beata A. Musial, Stacey Lowery Bretz, and Neil D. Danielson, Diep Ca, Investigating the Retention Mechanisms of Liquid Chromatography Using Solid-Phase Extraction Cartridges // *Journal of Chemical Education*, January 2009. – Vol. 86, № 1. – P. 60-63.

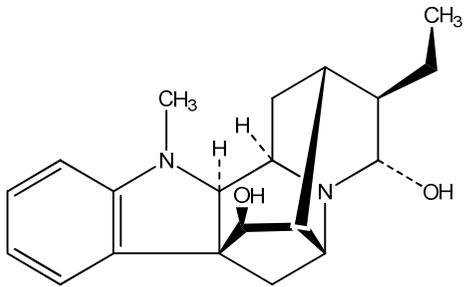
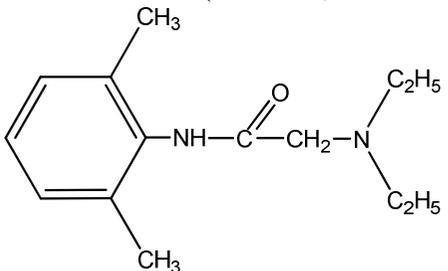
151. Qian Tao, Qian Wu, Xiangmin Zhang, Thermal Expansion Pump for Capillary High-Performance Liquid Chromatography // Analytical Chemistry, February 1, 2010. – Vol. 82, № 3. – P. 842-847.
152. Richard E. Klabunde, Cardiovascular Pharmacology Concepts // About.com Health's Disease and Condition content is reviewed by our Medical Review Board , November 13, 2007.
153. Richard N. Fogoros, Antiarrhythmic Drugs for Atrial Fibrillation // About.com Health's Disease and Condition content is reviewed by our Medical Review Board, November 13, 2007.
154. N.B. Shlevkov, S.A. Bakalov, S.P. Pasha, L.M. Sergakova, L.Yu. Nesterenko, V.B. Sergienko. S.P. Golitsyn, Prediction of Short and Long-Term Results of Antiarrhythmic Drug Therapy in Patients With Malignant Ventricular Tachyarrhythmias. The Prognostic Value of Local Left Ventricular Contractility Disorders // Journal «Kardiologia», № 7. – 2007. – P. 145-162.
155. Stephen E., Reichenbach, Quantification in Comprehensive Two-Dimensional Liquid Chromatography // Journal Analytical Chemistry, June 15, 2009. – Vol. 81, № 12. – P. 5099-5101.
156. Wells P.S., Zhou S., Parcher J.F., Gas-Liquid Chromatography with a Volatile “Stationary” Liquid Phase // Journal Analytical Chemistry, May 1, 2002. – Vol. 74, № 9. – P. 2130-2111.
157. William F. Coleman, Edward W. Fedosky, A Gel Permeation Chromatography Simulator from JCE WebWare // Journal of Chemical Education, October 2006. – Vol. 83, № 10. – P. 1567-1568.
158. [www.cardioschool.ru](http://www.cardioschool.ru)
159. [www.doctorpiter.ru](http://www.doctorpiter.ru)
160. [www.rosminzdrav.ru](http://www.rosminzdrav.ru)

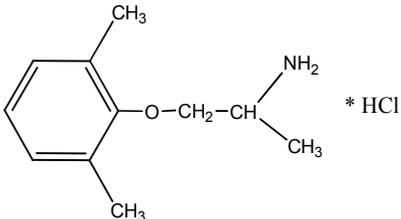
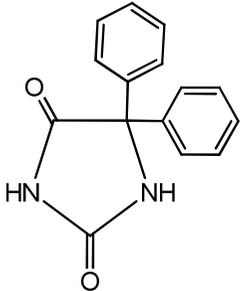
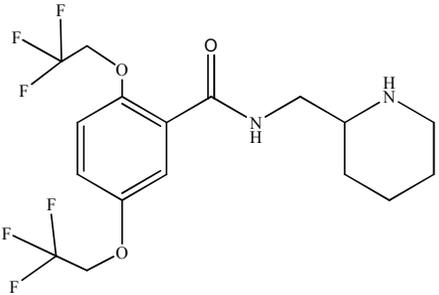
# **ПРИЛОЖЕНИЯ**

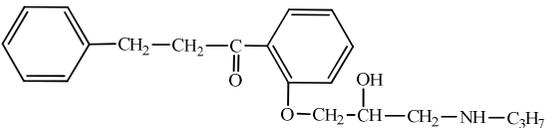
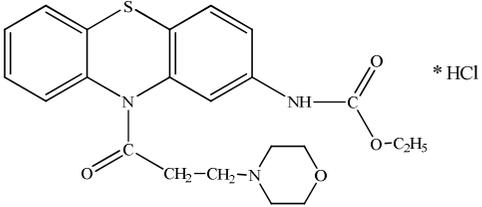
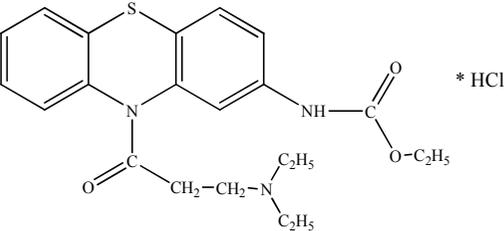
Лекарственные средства антиаритмического действия. Краткая характеристика

№ п/п	Основа химической структуры	Название активного вещества и химическая формула	Химическое название	Побочные действия	Токсичность (на животных)	Литература
1	2	3	4	5	6	7
1	Хинолин, хинуклидин	<p>Хинидина сульфат</p> 	6'-метоксихинолил-(4')-[5-винил-хинуклидил-(2)]-карбинола сульфат	Звон в ушах, нарушение слуха, головная боль, нарушение зрения, диарея, тошнота, рвота, идиосинкразия, тромбоцитопения, предсердно-желудочковый и межжелудочковый блоки, токсическая, тахиаритмия	ЛД <sub>50</sub> = 11,3 мг/кг	46, 109, 126
		<p>Оксилидин</p> 	3-бензоилокси-хинуклидина гидрохлорид	Сухость во рту, легкая тошнота, кожные высыпания, нарушение функции печени и почек, ксеростомия, диспепсия.		46, 109, 126

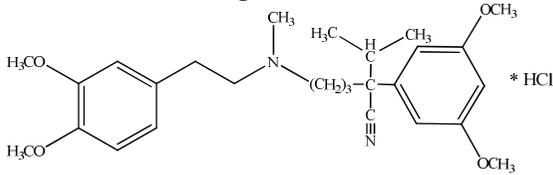
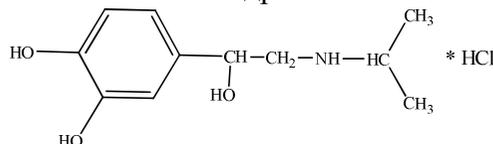
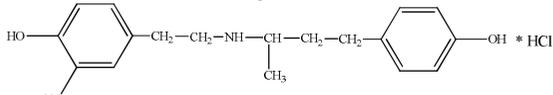
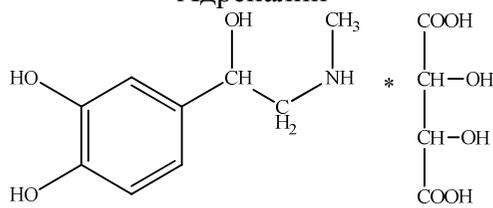
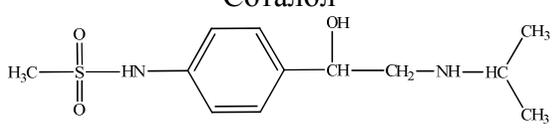
1	2	3	4	5	6	7
2	Пиридин	<p>Дизопирамид (ритмилен)</p>  <p>* H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></p>	2-диизопропил-амино-2-фенил-2-(2-пиридил)-бутирамида фосфат	Сухость во рту, нарушение аккомодации, затруднение мочеиспускания, снижение остроты зрения, угнетение сократимости миокарда, снижение артериального давления, атриовентрикулярная блокада, головная боль, головокружение, аллергические реакции.		46, 109, 126
3	ЛС производные ароматических аминокислот	<p>Эфиры п-аминобензойной кислоты</p>	<p>Новокаин</p>  <p>* HCl</p>	β-Диэтиламино-этилового эфира пара-аминобензойной кислоты гидрохлорид	Головокружение, общая слабость, снижение АД, коллапс, шок, аллергические реакции	46, 109, 126
		<p>Амиды п-аминобензойной кислоты</p>	<p>Новокаинамид (прокаинамида хлорид)</p>  <p>* HCl</p>	4-Амино-N-[2-(диэтиламино)-этил]бензамида гидрохлорид	галлюцинации, депрессия, миастения, головокружение, головная боль, судороги, психотические реакции с продуктивной симптоматикой, атаксия, горечь во рту, нарушение вкуса, угнетение костномозгового кроветворения, кожная сыпь.	46, 104, 109, 126

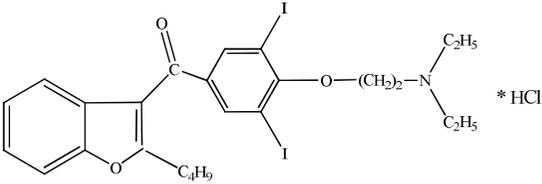
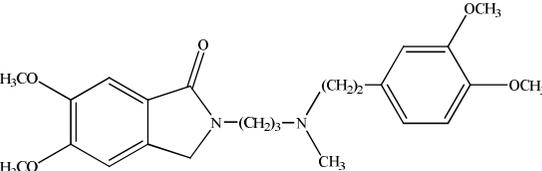
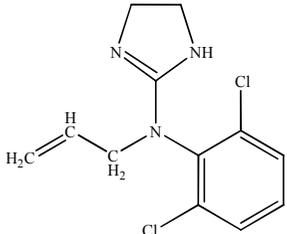
1	2	3	4	5	6	7
4	Индол	<p>Аймалин</p> 	(17R,21альфа)- Аймалан-17,21-диол	тошнота, рвота, внутрипеченочный холестаз. головная боль, головокружение. SA и/или AV блокада, нарушение внутрижелудочковой проводимости, снижение АД, асистолия, фибрилляция желудочков. аллергические реакции		46, 109, 126
5	Диэтиламиноацетанилиды	<p>Лидокаин (ксикаин, ксилокаин)</p>  <p>* HCl</p>	2-диэтиламино- 2',6'- ацетоксилидида гидрохлорид	Эйфория , головокружение , мелькание «мушек» перед глазами, светобоязнь, невротические реакции, головная боль , тревожность, шум в ушах, диплопия , судороги , тремор , сонливость, парестезии , дезориентация, спутанность сознания. Паралич дыхательных мышц, остановка дыхания, блок моторный и чувствительный, респираторный паралич	ЛД <sub>50</sub> = 5,0	46, 104, 109, 126
		<p>Тримекаин</p>  <p>* HCl</p>	α-Диэтиламино- 2,4,6-триметил- ацетанилида гидрохлорид	Те же		46, 104, 109, 126

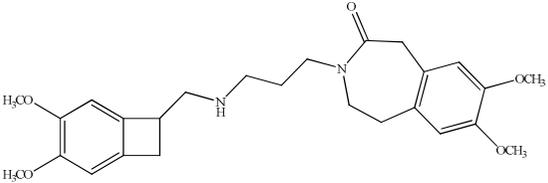
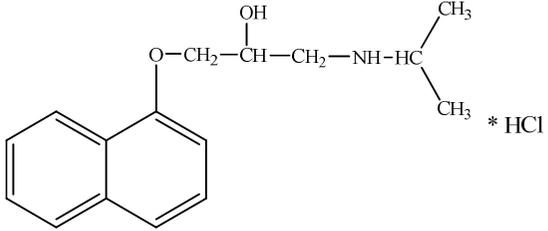
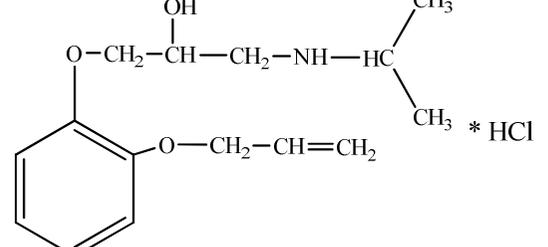
1	2	3	4	5	6	7
6	Этиламин	<p>Мексилетин</p>  <p>* HCl</p>	1-метил-2-(2,6-ксилокси)-этиламина гидрохлорид	Нервозность, бессонница, парестезия, головокружения, головные боли, мышечная дрожь, нарушение координации, судороги, расстройства зрения, боль в грудной клетке, периферические отеки, усиление желудочковой аритмии, тошнота, рвота, изжога, нарушение функции печени, снижение АД, брадикардия, лейкопения, тромбоцитопения, кожные высыпания.		46, 109, 126
7	Гидантоин	<p>Дифенин (дифенилгидантоин, фенитоин)</p> 	5,5-дифенилгидантоин	головокружение, нарушение сна, нарушение координации движений (атаксия), дрожание рук, затруднение дыхания, повышение температуры тела. Могут наблюдаться тошнота, рвота, боли в желудке, кожные сыпи, зуд, разрастание слизистой оболочки десен (гиперплазия), угнетение кроветворения (лейкопения, анемия), снижение массы тела, боли в глазах, стоматит, гингивит.		46, 109, 126
8	Бензамид	<p>Флекаинид</p> 	(RS)-N-(пиперидин-2-илметил)-2,5-бис-(2,2,2-трифторэтокси) бензамид	тошнота, головная боль, головокружение, нарушение зрения проаритмический эффект, застойная сердечная недостаточность или ее ухудшение, удлинение интервалов PR, QRS и QT, синдром брадикардии-тахикардии, гипо- или гиперкалиемия.		46, 109, 126

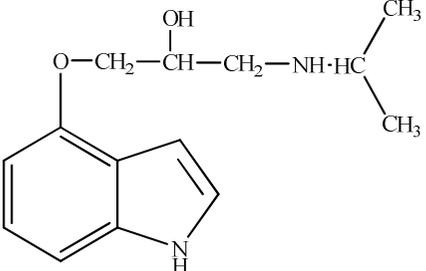
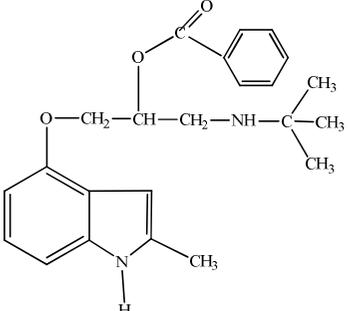
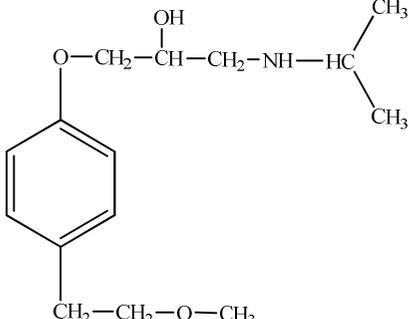
1	2	3	4	5	6	7
9	Пропиофенон	<p style="text-align: center;">Пропафенон</p> 	2'-[2-окси-3-(пропиламино)-пропокси]-3-фенилпропиофенон	Запор, затуманенность зрения, сухость во рту, головная боль, головокружение, диспепсия, ортостатическая гипотензия, брадикардия, нарушение внутрисердечной проводимости, аритмогенное действие, кожные аллергические реакции		46, 93, 109, 126, 127
10	Фенотиазин	<p style="text-align: center;">Морацизин (Этмозин)</p> 	1-(3-морфолинопропионил)-2-(этоксикарбонил-амино)-фенотиазина гидрохлорид	Диспепсия, артериальная гипотензия, сердцебиение, аритмогенное действие, сердечная недостаточность, тромбоцитопения		46, 109, 126
		<p style="text-align: center;">Этацизин</p> 	1-(3-диэтиламинопропионил)-2-(этоксикарбонил-амино)-фенотиазина гидрохлорид	Тошнота, головокружение, нарушение аккомодации, шум в ушах, онемение разных частей тела, «сетка» перед глазами		9, 46, 126

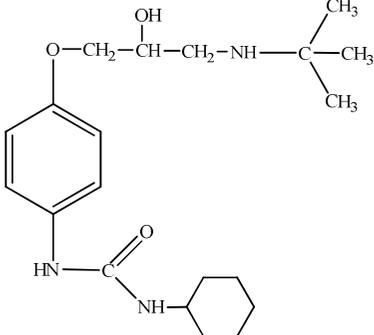
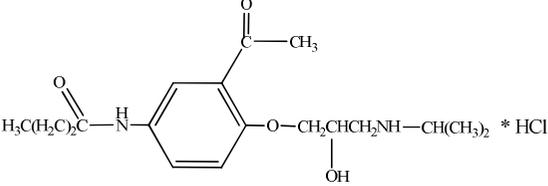
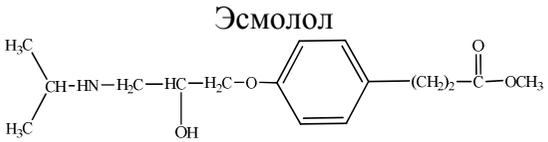
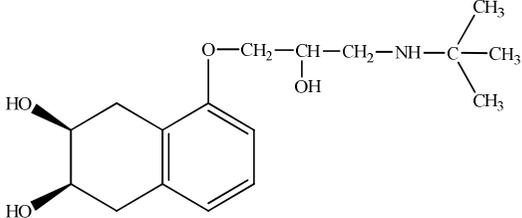
1	2	3	4	5	6	7
11	Нораконан	<p style="text-align: center;">Аллапинин</p>	<p style="text-align: center;">[1<math>\alpha</math>,1<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>- триметокси-4-(N- ацетилантраноилокс и)-8,9-N-этил-18- нораконан] Алкалоид из травы аконита белоустого</p>	<p style="text-align: center;">Головокружение, головная боль, ощущение тяжести в голове, гиперемия лица, диплопия, атаксия, тахикардия</p>		46, 107, 109, 126
12	Бензотиазепины	<p style="text-align: center;">Дилтиазем</p> <p style="text-align: right;">* HCl</p>	<p style="text-align: center;">D-цис-3-ацетокси- 2,3-дигидро-5-[2- (диметиламино)- этил]-2-(2- метоксифенил)-1,5- бензо-тиазепин- 4(5H)-она гидрохлорид</p>	<p style="text-align: center;">Головокружение, головная боль, тахикардия, отеки, мышечная слабость</p>		46, 109, 126

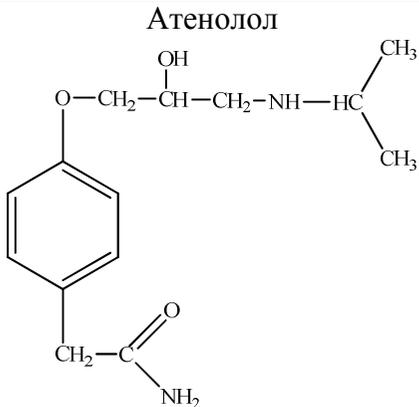
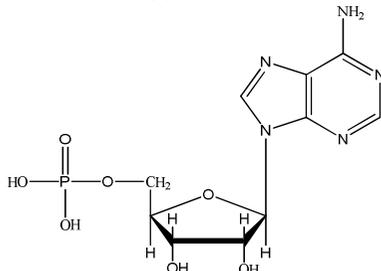
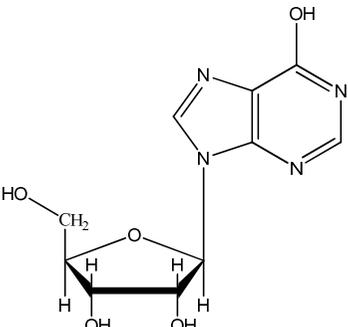
1	2	3	4	5	6	7
13	Фенилалкаламины	<p><b>Верапамил</b></p> 	5-[(3,4-диметокси-фенилэтил)-метиламино]-2-(3,4-диметокси-фенил)-2-изо-пропилвалеро-нитрила гидрохлорид	Тошнота, рвота, головокружение, головная боль, гиперемия лица, повышенная утомляемость, периферические отеки, аллергические реакции, запор, артериальная гипотензия, атриовентрикулярная блокада, сердечная недостаточность.		46, 109, 126
		<p><b>Изадрин</b></p> 	1-(3,4-диоксифенил)-2-изопропиламино-этанола гидрохлорид	Тахикардия, тремор, головная боль, тошнота, сухость во рту, тахикардия, экстрасистолия с опасностью фибрилляции желудочков.		46, 109, 126
		<p><b>Добутамин</b></p> 	(±) 4-[2-[[3-(пара-оксифенил)-1-метилпропил]амино]этил]пирокатехина гидрохлорид	Синусовая тахикардия, аритмии, боль в области сердца, головная боль, тошнота, рвота, бронхоспазм.		46, 109, 126
		<p><b>Адреналин</b></p> 	l-1-(3,4-диоксифенил)-2-метиламиноэтанола гидротартрат	Аритмии, отек легких, ишемия сердца, тремор, беспокойство, головная боль, тошнота, рвота		46, 109, 126
14	Сульфонамид	<p><b>Соталол</b></p> 	4'-[1-окси-2-(изопропиламино)этил]фенилметансульфонамид (в виде г/хл)	Сердечная недостаточность, сердечный блок, повышение тонуса периферических сосудов, бронхоспазм, нарушение сна, диспепсия, депрессия, аритмогенное действие		46, 97, 109, 126

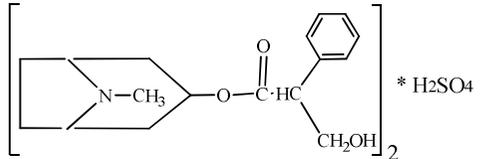
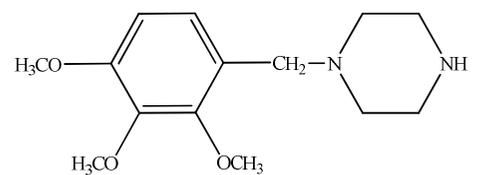
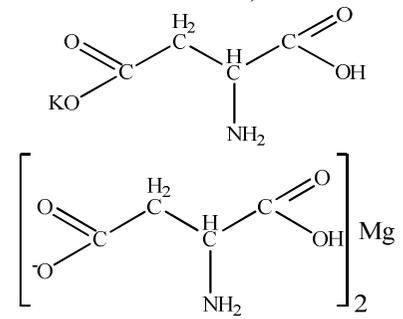
1	2	3	4	5	6	7
15	Бензофуран	<p>Амиодарон (кордарон)</p> 	[2-бутил-3-бензофуранил]-[4-(2-диэтиламиноэтокси)-3,5-дийодфенил]-кетона гидрохлорид	Альвеолит, фиброз легких, атаксия, тремор, мышечная слабость, металлический привкус, тошнота, запоры, потеря аппетита, активизация печеночных ферментов, желтуха, гепатит, нарушение внутрисердечной проводимости, желудочковая тахикардия, гипо- или гипертиреозидизм, фотосенсибилизация, серо-голубое окрашивание кожи, анемии.		46, 109, 126, 135, 146
16	Изоиндолинон	<p>Фалипамил</p> 	2-[3-[2-(3,4-диметоксифенил)этилметиламино]пропил]-5,6-диметокси-1-изоиндолинон isoindolinone	Фотопсия, нечеткость зрения, брадикардия, АВ блокада I ст., желудочковая экстрасистолия; головная боль, головокружение сердцебиение, наджелудочковая экстрасистолия; тошнота, запор, диарея; одышка, мышечные судороги; гиперурикемия, эозинофилия, гиперкреатининемия, синусовая аритмия, нестабильная стенокардия, мерцательная аритмия, ишемия миокарда, инфаркт миокарда, желудочковая тахикардия. До конца не изучены		46, 109, 126
17	Имидазол	<p>Алинидин</p> 	N-(2,6-дихлорфенил)-N-(проп-2-ен-1-ил)-4,5-дигидро-1H-имидазол-2-амино			46, 109, 126

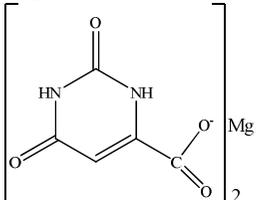
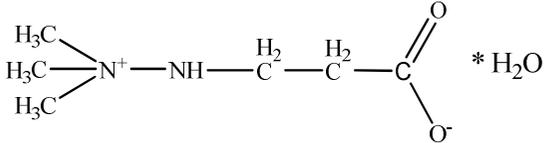
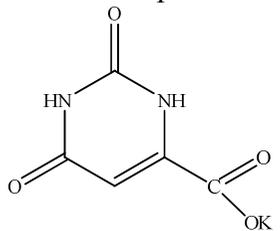
1	2	3	4	5	6	7
18	Бензазепин	<p style="text-align: center;"><b>Ивабрадин</b></p> 	(S)-3-(3-(((3,4-диметоксибицикло(4.2.0)окта-1,3,5-триен-7-ил)метил)метил-амино)пропил)-1,3,4,5-тетрагидро-7,8-диметокси-2Н-3-бензазепин-2-он	Фотопсия, нечеткость зрения, брадикардия, АВ блокада I ст., желудочковая экстрасистолия; головная боль, головокружение, сердцебиение, наджелудочковая экстрасистолия; тошнота, запор, диарея; одышка, мышечные судороги; гиперурикемия, эозинофилия, гиперкреатининемия, синусовая аритмия, нестабильная стенокардия, мерцательная аритмия, ишемия миокарда, инфаркт миокарда, желудочковая тахикардия.		29, 32, 46, 109, 126
19	Спирты	<p style="text-align: center;"><b>Анаприлин (пропранолола гидрохлорид)</b></p> 	(±)-1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанола гидрохлорид	Сердечная недостаточность, сердечный блок, повышение тонуса периферических сосудов, бронхоспазм, нарушение сна, диспепсия, депрессия		46, 109, 126
		<p style="text-align: center;"><b>Оксспренолол (гразикор)</b></p> 	1-(о-аллилокси-фенокси)-3-изопропиламино-2-пропанола гидрохлорид	Те же		46, 109, 126

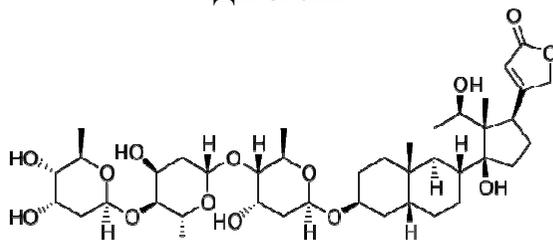
1	2	3	4	5	6	7
	Спирты	<p>Пиндолол (вискен)</p> 	1-(4-индолилокси)-3-изопропиламино-2-пропанол	Те же		46, 109, 126
		<p>Бопиндолол</p> 	(±)-1-трет-бутиламино-3-[(2-метил-4-индолил)-окси]-2-пропанол бензоат	Те же		46, 109, 126
		<p>Метопролол (корвитол, эгилек)</p> 	(±)-1-(изопропил-амино)-3-[пара-(метоксиэтил)фенок си]-2-пропанол	+ периферические отеки, артралгия, миалгия, нарушение зрения, снижение либидо, лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения.		46, 109, 126

1	2	3	4	5	6	7
	Эфиры и амиды	<p style="text-align: center;">Талинолол (корданум)</p> 	<p>(±)-1-[пара(3-трет-бутиламино-2-оксипропокси)-фенил]-3-циклогексилмочевина</p>	См. анаприлин		46, 109, 126
		<p style="text-align: center;">Ацебутолол</p> 	<p>(±)-N-[3-ацетил-4-[2-окси-3-[(1-метилэтил)амино]проокси]фенил]бутанамида гидрохлорид</p>	См анаприлин и атенолол		46, 109, 126
		<p style="text-align: center;">Эсмолол</p> 	<p>(+)-4-[2-окси-3-[(1-метилэтил)амино]проокси]фенилпропионовой кислоты метиловый эфир</p>	См анаприлин и атенолол		46, 109, 126
20	Нафталин	<p style="text-align: center;">Надолол (коргард)</p> 	<p>2,3-дис-1,2,3,4-тетрагидро-5-[2-окси-3-(трет-бутиламино)]пропокси-2,3-нафталиндиол</p>	Утомление, бессонница, парестезии, сухость во рту, брадикардия, желудочно-кишечные расстройства	ЛД <sub>50</sub> = 4500 мг/кг	46, 109, 126

1	2	3	4	5	6	7
21	Фенилацетамид	<p>Атенолол</p> 	(±)4-(2-окси-3-изопропиламино-пропокси)-фенилацетамид	Брадикардия, атриовентрикулярная блокада, гипогликемия, гипотиреоидия, диспепсия, депрессия, ночные кошмары, аллергические реакции	ЛД <sub>50</sub> = 50 мг/кг	46, 109, 126
22	Ксантин	<p>Аденозин</p> 	Фосфорный эфир 9-β-D-рибофуранозид аденина	Тошнота, головокружение, тахикардия, аллергические реакции		46, 109, 126
		<p>Рибоксин</p> 	9-β-D-рибофуранозилгипоксантин	Зуд, гиперемия кожи, повышение концентрации мочевой кислоты в крови, обострение подагры		46, 109, 126

1	2	3	4	5	6	7
23	Тропан	<p>Атропин</p>  <p>* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></p>	Тропиновый эфир d,l-троповой кислоты	Сухость во рту, расширение зрачков, нарушение аккомодации, тахикардия, затруднение мочеиспускания, атония кишечника, головокружение, головная боль.	ЛД <sub>50</sub> = 400 мг/кг	46, 109, 126
24	Пиперазин	<p>Триметазидин (Предуктал)</p> 	N-(2,3,4-триметоксибензил) пиперазин	Тошнота, рвота, боли в эпигастральной области, аллергические реакции.		46, 109, 126
25	Препараты калия	<p>Калия хлорид KCl</p>	Калия хлорид	Парестезии, тошнота, рвота, диарея, увеличение числа extrasystoles.		41, 46, 109, 126
		<p>Панангин (аспаргинаты калия и магния)</p> 	Калиевая и магниевая соли аминокислоты	Парестезии, диспепсия, атриовентрикулярный блок, тошнота, покраснение лица, жажда, снижение АД, нарушение нервно-мышечной проводимости, головокружение.		41, 46, 109, 126, 134

1	2	3	4	5	6	7
26	Препараты магния	<p>Магния сульфат MgSO<sub>4</sub> * 7H<sub>2</sub>O</p>	Магния сульфат	Тошнота, рвота, брадикардия, нарушение внутрисердечной проводимости, диплопия, ощущение жара, мышечная слабость, гиповентиляция, апноэ, снижение сухожильных рефлексов.		41, 46, 109, 126
		<p>Магнерот (Магния оротат)</p> 	Магниева соль урацил-4-карбоновой (оротовой) кислоты	диарея		41, 46, 109, 126
27	ЛС производные карбоновых кислот	<p>Милдронат (мельдоний)</p> 	3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат моногидрат	диспепсия, учащение сердечного ритма, снижение или повышение АД, аллергические реакции.	ЛД <sub>50</sub> = 1750,2 ± 131 мг/кг	46, 109, 126
28	Пиримидин	<p>Калия оротат</p> 	Калиевая соль урацил-4-карбоновой (оротовой) кислоты	Аллергические дерматозы, диспепсические явления		46, 109, 126
29		<p>Настойка плодов боярышника (флавоноиды, органические кислоты, каротиноиды, тритерпеновые соединения)</p>		аллергические реакции, снижение АД, брадикардия (при длительном применении), тошнота, рвота, кишечная колика (при приеме натошак), сонливость.		46, 109, 126

1	2	3	4	5	6	7
30	Циклопентанпергидрофенантрен (карденолиды)	Дигитоксин	(3 $\beta$ ,5 $\beta$ )-3-[( <i>o</i> -2,6-Дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил-(1"4)- <i>o</i> -2,6-дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил)-(1"4)-2,6-дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил)-окси]-14-гидроксикард-20(22)-енолид	Тошнота, рвота, потеря аппетита, понос, суправентрикулярная пароксизмальная тахикардия с частичной атриовентрикулярной блокадой, фибрилляция желудочков, головная боль, беспокойство, бессонница, депрессивные явления, нарушение зрения.	ЛД <sub>50</sub> = 3 мг/кг	46, 109, 126
		Кордигит (сумма гликозидов - дигитоксин, гитоксин и др.)		Те же + брадикардия, тошнота, экстрасистолия		46, 109, 126
		Дигоксин		(3 $\beta$ ,5 $\beta$ ,12 $\beta$ )-3-[( <i>o</i> -2,6-Дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил-(1"4)- <i>o</i> -2,6-дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил-(1"4)-2,6-дидезокси- $\beta$ -D-рибогексопиранозил)-окси]-12,14-дигидрокси-кард-20(22)-енолид	Брадикардия, нарушения атриовентрикулярной проводимости, желудочковая экстрасистолия, фибрилляция желудочков, тошнота, рвота, аллергические реакции, тромбоцитопения, петехии, носовые кровотечения, гинекомастия, нарушения сна, нарушение цветовосприятия, головная боль, головокружение.	ЛД <sub>50</sub> = 13,2 мг/кг



**Испытательная лаборатория**  
 Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области  
 Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств  
 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 49, тел/факс (343) 379-34-41, 379-34-42  
 Аттестат аккредитации испытательной лаборатории (центра) №РОСС RU.0001.21ФМ06

### Протокол испытаний №2827 от 07.07.2014

Наименование образца: Мономекаина нитрат, субстанция-порошок

Серия: 170314/п  
 Регистрационный номер (номер реестровой записи):  
 Изготовитель: Бабилова Е.А.  
 Заказчик: Бабилова Е.А.  
 Основание для проведения испытаний: Заявка № 2 от 04.07.2014 г  
 Направление в ИЛ №: 2856/1  
 Количество образца: 2 г  
 Объем партии (серии):  
 Состояние образца: Удовлетворительное  
 Нормативные документы: Проект ФСП  
 Дата начала испытаний: 4 июля 2014

Показатель	Требование по НД	Результат испытания
Антимикробная активность	В соответствии с ГФ XII ч. 1, ОФС 42-0067-07	Антимикробная активность обнаружена к тест-штамму E.coli в разведении 1:10.  Антимикробная активность не обнаружена к остальным штаммам: B.cereus, C.albicans, P.aeruginosa St.aureus в разведениях 1:10, 1:50, 1:100, 1:500

Дата сдачи результатов испытаний: 7 июля 2014

#### Заключение

Образец: Мономекаин нитрат, субстанция-порошок обладает антимикробной активностью в отношении тест-штамма E.coli в разведении 1:10. К остальным штаммам - B.cereus, C.albicans, P.aeruginosa, St.aureus - антимикробная активность в разведениях 1:10, 1:50, 1:100, 1:500 не выявлена.

Врач-бактериолог

Руководитель

м.п.



( Брацлавская Е.И. )

( Морозова Т.В. )

#### ПРИМЕЧАНИЕ

1. Запрещается частичное или полное копирование или перепечатка протокола испытаний без письменного разрешения испытательной лаборатории.
2. Протокол испытаний касается только образцов, подвергнутых испытанию.



**Испытательная лаборатория**  
 Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области  
 Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств  
 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 49, телефоны (343) 379-34-41, 379-34-42  
 Аттестат аккредитации испытательной лаборатории (центра) № РОСС RU.0001.21ФМ06

### Протокол испытаний №1908 от 16.04.2014

Наименование образца: Мономакина нитрат, субстанция

Серия: 170314/п

Регистрационный номер (номер реестровой записи):

Изготовитель: Бабикова Е.А.

Заказчик: Бабикова Е.А.

Основание для проведения испытаний: Заявка №бн от 10.04.2014

Направление в ИЛ №: 1559/1

Количество образца: 2 г

Объем партии (серии):

Состояние образца: Образец отобран от антро представителем заказчика в стеклянный флакон

Нормативные документы: Проект ФСП

Дата начала испытаний: 10 апреля 2014

Показатель	Требования по ЦД	Результат испытаний
Количественное определение, %	Потенциометрическое титрование в мезидной среде 99.0 - 100.5 на сухое вещество	99.89 ( по результатам 6 испытаний )

Дата сдачи результатов испытаний: 16 апреля 2014

Образец: Мономакина нитрат, субстанция, соответствует требованиям нормативной документации: Проект ФСП по проверенному показателю.

Провизор-аналитик

Исполнитель м.п.



 (Никulina Л.А.)

 (Morozova T.V.)

**ПРИМЕЧАНИЕ**

1. Запрещается частичная или полная копия протокола испытаний без письменного разрешения испытательной лаборатории
2. Протокол испытаний касается только образца, подвергнутого испытанию

Приложение 5

Результаты исследований по изучению стабильности субстанции Мономекаина методом «ускоренного старения»

Серия	Срок хранения, сут	Описание	Подлинность				Температура плавления, °С	Количественное содержание, %
			ИК-спектр	УФ спектр	Реакция образования азокрасителя	Реакция с дифенил-амином		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	137 – 139	не менее 99,0
050713	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	138,2	99,99
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,6	99,83
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,6	99,87
	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,83
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,1	99,95
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,9	99,76
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,70

## Продолжение приложения 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
80813	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	138,9	99,96
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,96
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,83
	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,8	99,87
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,2	99,83
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,70
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,74
170314	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	137,7	99,90
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,9	99,83
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,9	99,80
	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,6	99,90
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,90
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,3	99,71
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,4	99,69

## Результаты исследований по изучению стабильности субстанции Мономекаина в естественных условиях

Серия	Срок хранения, лет	Описание	Подлинность				Температура плавления, °С	Количественное содержание, %
			ИК-спектр	УФ спектр	Реакция образования азокрасителя	Реакция с дифениламином		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	137–139	не менее 99,0
141209	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	138,2	99,81
	1	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,2	99,78
	2	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,1	99,73
	3	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,0	99,69
	4	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,0	99,65
290110	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	139,0	99,87
	1	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	139,0	99,81
	2	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,9	99,78
	3	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,75
	4	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,7	99,73

Испытательная лаборатория  
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области  
Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств  
620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 49, тел/факс (343) 379-34-41, 379-34-42  
Аттестат аккредитации испытательной лаборатории (центра) № РОСС RU.0001.21ФМ06

---

### Акт апробации

методик оценки качества Мономекаина (2-метиланилида-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат) в соответствии с проектом ФС.

Разработчики методик: аспирант кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО Бабикова Е.А. и д.ф.н., проф. Чекрышкина Л.А.

Апробация проведена в ГБУЗ СО «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» по предложенным методикам оценки качества субстанции Мономекаина (спецификация на субстанцию Мономекаина прилагается).

### Заключение

Согласно испытаниям, полученные результаты соответствуют показателям и требованиям проекта ФС.

Провизор-аналитик

 /Л.А. Никулина/

Старший провизор-аналитик

 /И.В. Бабкина/

Руководитель ИЛ





/Т.В. Морозова/

**СПЕЦИФИКАЦИЯ**  
**Мономекаин, субстанция**

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	Органолептический ГФ XII, ч. I, с. 17, 484	Белый кристаллический порошок без запаха
Растворимость	ГФ XII, ч. I, с. 92	Легко растворим в воде и спирте этиловом 96 %, растворим в хлороформе, умеренно растворим в ацетоне
Подлинность	Инфракрасная спектрометрия	ИК спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом в области от 4000 до 400 см <sup>-1</sup> по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра Мономекаина
	Ультрафиолетовая спектрофотометрия	УФ спектр 0,001 % спиртового раствора в области 220-350 нм должен иметь максимум при 244±1 нм
	Качественная реакция – образование азокрасителя после кислотного гидролиза (амидная группа) Качественная реакция на нитраты	Осадок красно-оранжевого цвета  Синее окрашивание
Температура плавления	ГФ XII, ч. I, с. 29	137 – 139 °С
Прозрачность раствора	ГФ XII, ч. I, с. 98	1 % раствор должен быть прозрачным
Цветность раствора	ГФ XII, ч. I, с. 93	1 % раствор должен быть бесцветным
рН раствора	ГФ XII, ч. I, с. 89 потенциометрически	От 4,90 до 5,70 (1 % водный раствор)
Хлориды	ГФ XII, ч. II	не более 0,02 %
Сульфаты	ГФ XII, ч. II	не более 0,03 %
Посторонние примеси (о-толуидин)	ТСХ	Пятно посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения не должно превышать пятно на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %); суммарное содержание примесей – не более 0,5 %
	ВЭЖХ	не более 0,2 %; суммарная площадь пиков посторонних примесей – не более 0,5 %
Потеря в массе при высушивании	ГФ XII, ОФС 42-0087-08	Не более 0,5 %

## Продолжение приложения 8

1	2	3
Остаточные органические растворители	ГФ XII, ч. I, с. 115	Бензол не более 2 ppm, ацетон не более 0,5 %
Тяжелые металлы	ГФ XII, ч. I, с. 121 (метод 1)	Не более 0,001 %
Сульфатная зола	ГФ XII, ч. I, с. 115	Не более 0,04 %
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ч. I, с. 160	Категория 2.2
Количественное определение	Титриметрический метод	Содержание ЛС не менее 99,0 % $C_{13}H_{20}N_2O \cdot HNO_3$ в пересчете на сухое вещество
Упаковка		По 1000 г в банки из стекломассы оранжевого цвета с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками и прокладками по ОСТ 64-2-87-81. На банки наклеивают этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86
Маркировка		Соответствует ФС
Транспортирование		ГОСТ 17768-90
Хранение		В сухом, защищенном от света месте в хорошо укупоренной таре при температуре 20-26 °С
Срок годности		3 года

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебно-воспитательной работе  
ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России  
профессор  Алексеева И.В.  
« 11 » декабря 2013 г.



## АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных исследований, выполненных на кафедре  
фармацевтической химии ФДПО и ФЗО  
ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России

Предложение для внедрения	Мономекаин – 2-метиланилид N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат – потенциальное лекарственное средство антиаритмического действия
Разработчики	Д.ф.н., профессор Чекрышкина Л.А. аспирант Брылина Е.А. ст. преп. Слепова Н.В.
Место использования	Учебный процесс в интернатуре, специальность фармацевтическая химия и фармакогнозия (в рамках цикла лекций)
Когда внедрено	Декабрь 2013 г., при чтении лекции «Инновационные направления в создании лекарственных средств»
Значимость внедрения	Получение информации о НИР ПГФА и кафедры в рамках разработки новых потенциальных лекарственных средств
Ответственный за внедрение: куратор интернатуры, доцент	 Березина Е.С.